

G. Fleissner.
Frankfurt am Main 1971.

Über die Sehphysiologie von Skorpionen

Belichtungspotentiale in den Medianaugen von
Androctonus australis L. und ihre tagesrhyth-
mischen Veränderungen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Günther Fleißner
aus Asch
Sudetenland

1971



gedruckt mit Genehmigung
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der J.W.Goethe Universität
Frankfurt/Main

Dekan: Prof.Dr.H.Oelschläger

1. Berichterstatter: Prof.Dr.D.Burkhardt

2. Berichterstatter: Prof.Dr.M.Lindauer

Termin der mündlichen Prüfung: 16. Juli 1971

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG	1
B. MATERIAL UND METHODEN	
I. Versuchstiere	3
II. Versuchsmethoden	
1. Histologie	3
2. Elektrophysiologie	
2.1. Präparation	3
2.2. Reizung	4
2.3. Ableittechnik	4
2.4. Registrierung	6
3. Tagesrhythmik	6
C. ERGEBNISSE	
I. Tagesrhythmik	
1. Der Tagesverlauf der ERG-Amplituden	7
2. Die Periodik der ERG-Amplituden ..	8
II. Morphologie	
1. Allgemeine Beschreibung	10
2. Die Retina	11
3. Morphologische Unterschiede zwi- schen Tag- und Nachtauge	12
III. Elektrophysiologie	
1. Das Generatorpotential der Retinu- lazellen	14
2. Alles-oder-Nichts-Potentiale in der Retina	15
3. Das Elektroretinogramm der Median- augen	
3.1. Das ERG des Nachtauges	16
3.2. Das ERG des Tagauges	18
3.3. Die Abhängigkeit des ERG von der Dauer des Reizes	19
3.4. Die Abhängigkeit der ERG-Form von der Wellenlänge monochro- matischer Reizlichter	19

4. Physiologische Unterschiede zwischen Tag- und Nachtauge	
4.1. Spektrale Empfindlichkeitsunterschiede	20
4.2. Unterschiede in der Latenz ..	21
5. Abhängigkeit der Erregungsformen von kurzzeitiger, schwacher Hell- und Dunkeladaptation	21
6. Versuche zur Deutung der ERG-Form .	
6.1. Starke Helladaptation	23
6.2. Flächeneffekte	24
6.3. Ableitung des ERG aus verschiedener Retinatiefe	24

D. DISKUSSION

I. Pigmentzellen	26
II. Schirmpigment der Retinulazellen	26
III. Tagesrhythmik	28
IV. Lichtinduzierte Erregungen in einzelnen Retinulazellen	31
V. Das Elektoretinogramm der Medianaugen	33
VI. Flächeneffekte im ERG	35

E. ZUSAMMENFASSUNG	37
--------------------------	----

F. LITERATUR	39
--------------------	----

A. EINLEITUNG

Der morphologisch einfache Bau der Skorpionaugen bietet dem Sinnesphysiologen eine gut überschaubare Ausgangssituation zum Studium dieser Sinnesorgane. Die Retina der Medianaugen besteht wahrscheinlich nur aus den Seh- und Pigmentzellen. Die erste neuronale Verarbeitung der Informationen aus den Sehzellen erfolgt - wegen des langen Sehnerven von den Augen entfernt - im Protocerebrum (BABU, 1965). Damit ist es möglich, bereits mit Hilfe der Ableitung von Elektroretinogrammen (ERG) Aussagen über die Erregungen in den Sehzellen zu gewinnen. Gelänge es nun zusätzlich, die Potentialänderungen in einzelnen Sehzellen abzuleiten, und so feste Beziehungen zwischen dem ERG und den Generatorpotentialen genauer zu erkennen, dann könnte man über das ERG indirekt die Erregungsvorgänge in den Sehzellen auch unter Bedingungen untersuchen, unter denen intrazelluläre Ableitungen prinzipiell nicht möglich sind.

Arbeiten über das ERG der Skorpionaugen sind erst in den letzten Jahren veröffentlicht worden. Über intrazelluläre Ableitungen aus diesen Augen hingegen ist noch nichts bekannt. MACHAN (1966, 1967, 1968a,b) sind die ersten und bisher umfangreichsten Untersuchungen über das Skorpionaugen-ERG zu verdanken. Ihnen folgten vor allem Veröffentlichungen von CARRICABURU und Mitarbeitern (u.a. CARRICABURU et NAIT, 1967; CARRICABURU et CHERRAK, 1968a,b; FOUCHARD et CARRICABURU, 1970) sowie von FLEISSNER (1968) und YINON (1969).

Skorpione sind nachtaktive Tiere (VACHON, 1953; WUTTKE, 1966). Die Augen von nachtaktiven Arthropoden (z.B. von Nachtfaltern) können durch Pigmentverlagerungen ihre Empfindlichkeit innerhalb weiter Grenzen verändern und damit den starken Beleuchtungsschwankungen zwischen Tag und Nacht anpassen (Zusammenfassung von CLAUD, 1964). Da Skorpione

- 2 -

ihre Augen auch zur Astromenotaxis (LINSENMAIR, 1968) verwenden, und im Biotop des nordafrikanischen Androctonus australis L. extrem hohe Beleuchtungsunterschiede zwischen Tag und Nacht vorkommen, sind bei diesen Tieren derartige Anpassungsmechanismen zu erwarten. Da schon seit längerer Zeit (JAHN und CRESCITELLI, 1940; WADA und SCHNEIDER, 1968) bekannt ist, daß die Empfindlichkeit z.B. von Käferaugen tagesrhythmische Schwankungen zeigt, ist zunächst zu prüfen ob bei den Skorpionen derartige tagesrhythmische Empfindlichkeitsänderungen vorkommen. Diese Frage ist vor allem auch von methodischer Bedeutung, da solche Vorgänge die Erregungsprozesse in den Augen stark beeinflussen können. Eine Untersuchung der Sehphysiologie der Skorpione unter möglichst gut definierten Bedingungen setzt also die Lösung dieser Frage voraus.

Herrn Prof. Dr. D. BURKHARDT danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein stetes Interesse.
Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für ihre Unterstützung mit Geräten und der Stiftung Volkswagenwerk für ein Promotionsstipendium.

B. MATERIAL UND METHODEN

I. Versuchstiere

Als Versuchstier diente der nordafrikanische Dickschwanzskorpion Androctonus australis.⁺⁾ Die Tiere - gefangen in Tunesien und Algerien - wurden in Gefäßen mit einer Grundfläche von 12x12 cm bis 30x30 cm auf Sand gehalten. Fütterung - vorwiegend mit Mehlkäferlarven - in Abständen von 2 bis 3 Wochen und regelmäßige Wassergabe erhalten die Skorpione jahrelang in offensichtlich sehr guter Verfassung.

II. Versuchsmethoden

1. Histologie

Die dorsale Prosomaschale, in der die Augen liegen, wurde den Versuchstieren unter Einhaltung der jeweiligen Adaptationslichtbedingungen so abgetrennt, daß außer den Augen nur noch wenig Gewebe daran haftete. Sie wurde dann in BOUINSchem Fixierungsgemisch fixiert, in Methacrylat eingebettet und geschnitten (RATHMAYER, 1962) und schließlich meist nach MASSON-Trichrom (n. GOLDNER in ROMEIS, 1948) gefärbt.

2. Elektrophysiologie

2.1. Präparation

2.1.1. Allgemein: Meist wurden die Versuchstiere entweder mit CO₂ oder in seltenen Fällen durch Abkühlung auf ca. 5°C immobilisiert und danach mit einem Wachs-Kollophoniumgemisch auf einer Unterlage befestigt. Das Metasoma mit dem Giftstachel war dabei - noch frei beweglich - in eine Kunststoffröhre gesteckt.

2.1.2. Für intrazelluläre Ableitung: Zunächst wurde aus dem Wachs-Kollophoniumgemisch mit einem kleinen Thermokauter auf dem Prosoma zwischen den Medianaugen ein längliches Wachsbecken modelliert. In dessen Boden wurde dann mit aus Stahlnadeln gefertigten Mikromessern ein Fenster in die Kutikula präpariert, das die Retina und den Augenschlauch von dorsal

⁺⁾ Für die Versuchstiere möchte ich an dieser Stelle dem Ehepaar Dr. Christel und Dr. K. Ewald Linsenmair herzlich danken.

zugänglich machte. Eine Bespülungsanlage führte an einem Ende des Beckens Spinnenringer (RATHMAYER, 1965) in das Operationsfeld und saugte ihn und die hervorquellende Haemolymph am anderen Ende wieder ab. Damit konnte ein Wundverschluß, der das Einstechen mit den Mikroelektroden unmöglich gemacht hätte, verhindert und der Flüssigkeitsspiegel genau geregelt werden.

2.1.3. Für ERG-Ableitung: a) z.T. wie bei intrazellulärer Ableitmethode (s. 2.1.2.).

b) "Langzeiterparate": Die Tiere wurden wie oben beschrieben aber mit möglichst wenig Wachs-Kollophonium am Prosoma und an den Extremitäten festgelegt. Sie waren stets in gutem Fütterungszustand, erhielten jedoch während der Versuche kein Futter mehr. Sie überlebten stets länger als 5 bis 6 Monate. Nach WACHON (1953) können Skorpione sogar über ein Jahr ohne Futter auskommen.

2.2. Reizung

Das Licht einer 450 W Xenonlampe (GSX-450W, PHILIPS) wurde durch einen Quarzkondensor über einen Kaltlichtspiegel, durch Filter und Quarzlinse auf den Eingang eines flexiblen UV-durchlässigen Lichtleiters (3 mm Faserbündeldurchmesser, 700 mm lang, SCHOTT & GEN.) fokussiert, dessen Ausgang das Medianauge des Versuchstieres aus einer Entfernung von 20 mm bei unbuntem Licht maximal mit ca. $7 \cdot 10^5$ lx bestrahlte.

In den Strahlengang konnte mit Hilfe eines Elektromagneten ein Spiegel direkt vor den Eingang des Lichtleiters gezogen werden, so daß der Lichtstrahl von einer zweiten Lichtquelle z.B. einer Glühfadenlampe, mit einer maximalen Intensität von ca. $5 \cdot 10^3$ lx alternativ zum Hauptlicht eingespiegelt werden konnte.

Die monochromatischen quantengleichen Lichtreize wurden mit Interferenzfiltern (SCHOTT & GEN.) erzeugt.

2.3. Ableittechnik

2.3.1. Intrazellulär: Mikroglaskapillaren (3 mol KCl) mit kleiner Spitzen Durchmesser (kritischer Elektrodenwiderstand ca. 50 MΩ) wurden mit einem Mikromanipulator (LLITZ) in die Retina gestochen. Dabei wurde Einstechwinkel und Klick-

trodentiefe kontrolliert. Als indifferente Elektrode diente ein chlorierter Silberdraht im Prosoma. Es gelangen Einzelzellaufleitungen, die manchmal über drei Stunden reproduzierbar blieben. Die meisten Zellen überlebten den Einstich aber nicht länger als 10 Minuten bis eine halbe Stunde. Die Glaskapillarelektroden waren über chlorierte Silberdrähte und einen Kathodenfolger (BAK, Elsa-1) an den DC-Verstärkereingang eines Oszillographen (TEKTRONIX, 502 A) angeschlossen.

2.3.2. ERG: a) Mit den oben beschriebenen Mikroelektroden.

b) Mit ringergefüllten Glaskapillaren (Spitzendurchmesser unter $50\text{ }\mu\text{m}$).

c) Mit Platinelektroden: Bei Langzeitpräparaten wurde als differente Elektrode ein $100\text{ }\mu\text{m}$ starker Platindraht in die seitlich etwas angebohrte Linse eines Medianauges gesteckt. Als indifferente Elektrode diente ein ebenso starker Platindraht, dessen Spitze direkt rostral vor dem Augenschlauch bis unter die Kutikula reichte. Die Wunden an diesen Stellen wurden mit Wachs-Kollophonium verschlossen. Dieses gab den Elektroden gleichzeitig einen mechanischen Halt. Die Platindrähte waren an Kupferdrähte gelötet, die zu einem Stecker im Präparatehalter führten. Das Versuchstier war über seine Unterlage und einen Dauermagneten auf diesen Präparatehalter aus Eisenblech justierbar befestigt. Es konnte dadurch leicht in verschiedene Versuchsaapparaturen, die ihrerseits für dieses Standardpräparat eingerichtet waren, durch einfaches Umstecken eingesetzt werden.

Da bei den Langzeitversuchen Gleichspannungsdriften besonders störten und die ERG-Amplituden oft nur in dem Bereich von 50 bis 200 μV lagen, wurden diese Präparate meist über einen AC-Vorverstärker (TEKTRONIX, 122, untere Grenzfrequenz 0,2 Hz) an den DC-Eingang des Oszillographen angeschlossen. Dadurch mußte eine gewisse differenzierende Verzerrung der ERG in Kauf genommen werden. Deshalb konnten an diesen ERG nur die Amplituden der schnellen Phasen ausgewertet werden, während über die langsamen Wellen nur qualitative Aussagen gemacht werden konnten. Abb. 1 zeigt ein Beispiel für ERG, die unter ungefähr denselben Bedingungen einmal mit dem AC-Vorverstärker

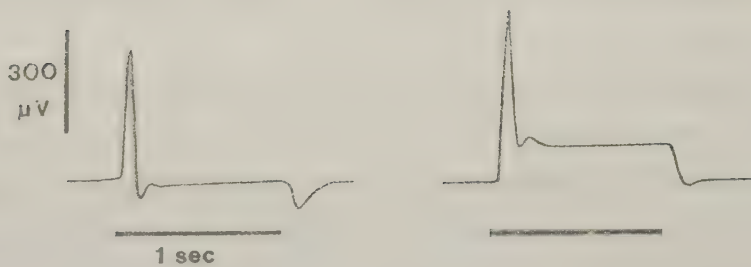


Abb. 1 Vergleich zwischen den ERG von Langzeitpräparaten (Tagphase), die mit einem AC-Vorverstärker (untere Grenzfrequenz 0,2 Hz) (links) und einem DC-Vorverstärker (rechts) unter sonst gleichen Bedingungen abgeleitet wurden.

vertikaler Balken: Amplitudenmaßstab.

horizontaler Balken: Reizdauer.

(links) und einmal mit dem DC-Vorverstärker (BIOELECTRIC, NF1) (rechts) verstärkt worden sind. Hier abgebildete ERG, in deren Bildunterschriften keine Angaben zur Methode stehen, wurden jeweils von Langzeitpräparaten mit dem AC-Vorverstärker abgeleitet.

2.4. Registrierung

Die Registrierung der Potentialänderungen geschah durch photographische Aufnahme vom Oszillographenschirm und durch FM-Tonbandaufzeichnung mit einem AMPEX Sp 7002.

3. Tagesrhythmik

Um die Änderung des ERG im Tagesverlauf über Wochen bis Monate verfolgen zu können, wurden Skorpione als Langzeitpräparate in eine automatisch registrierende Versuchsanordnung gebracht. In dieser Apparatur befanden sich die Tiere im "Dauerdunkel" ⁺⁾ bei $29 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ und erhielten in halbstündigen Abständen konstante Testreize von 150 msec Dauer mit einer Intensität von ca. 10^4 lx (Glühfadenbirne, 30 W). Bei jeder Registrierung folgten auf einen Startimpuls, der von einer elektrischen Synchronuhr gegeben wurde, mehrere Kontaktschließungen, die der Reihe nach die Registrierkamera, den Oszillographenstrahl, den Photoverschluß und die Beleuchtung der photographisch mitprotokollierten Uhr getriggert haben. Um diese über sehr lange Zeiträume andauernden Registrierungen rationell zu gestalten, waren jeweils 6 Tiere auf eine Trommel gesteckt. Diese Trommel - durch seitlich einsteckbare Metallnippel programmiert - löste während eines Umlaufs nacheinander alle Funktionen so aus, daß der Reihe nach die ERG aller 6 Tiere photographiert wurden (Abb.2).

⁺⁾ Der Begriff Dauerdunkel wird hier immer in Anführungszeichen gebraucht, wenn die Dunkelzeit während der Experimente durch die regelmäßigen aber kurzen Testlichtreize unterbrochen war.

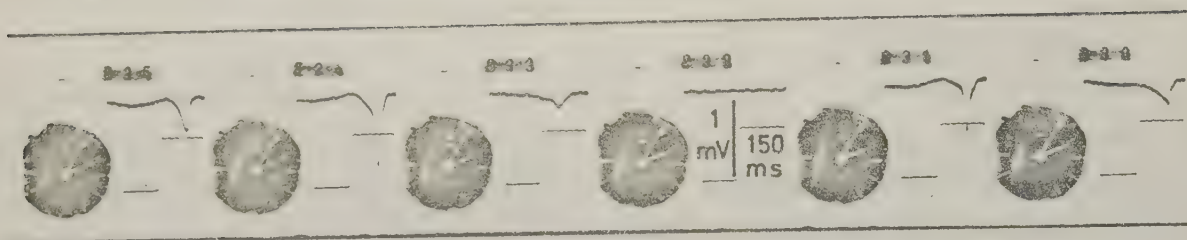


Abb. 2 Originalregistrierung aus der automatisch arbeitenden "Rhythmikapparatur". Die Apparatur ist in diesem Fall mit 5 Tieren besetzt, deren Tagesphasen z.T. gegeneinander verschoben sind.

C. ERGEBNISSE

I. Tagesrhythmik

1. Der Tagesverlauf der ERG-Amplituden

Reizt man ein Medianauge eines Skorpions im "Dauerdunkel" mit halbstündig wiederholten stets gleichen Lichtblitzen, so werden diese im Verlauf von 24 Stunden im Elektroretinogramm unterschiedlich hoch beantwortet. Die Erregungsgröße schwankt - bei Lichtreizen mit ca. 10^4 lx unbuntem Licht - ungefähr zwischen 0,2 und über 2,0 mV. Trägt man diese ERG-Amplituden in Abhängigkeit von der Uhrzeit auf, so läßt sich eine tagesperiodische Wirksamkeitsverteilung erkennen (Abb.3). Über ungefähr eine Hälfte der Periode bleibt die Amplitude klein, und in der anderen Hälfte steigt sie zunächst rasch, dann langsamer bis auf das zehnfache der kleinen Amplitude an. Vergleicht man die Phasenlage der beiden Halbperioden mit der Phasenlage des Licht-Dunkel-Wechsels, aus dem die Tiere kommen, so fällt zu Beginn des Versuchs der Abschnitt mit den großen ERG-Amplituden genau mit der Dunkelphase zusammen und der mit den kleinen Amplituden entsprechend mit der Lichtphase. Es scheint deshalb sinnvoll, diese beiden Zustände als "physiologisches Nachtauge" und "physiologisches Tagauge" voneinander zu unterscheiden, im folgenden kurz Nacht- bzw. Tagauge genannt.

Ein Beispiel (Abb.4) soll dazu dienen, die Ergebnisse im einzelnen zu beschreiben. Die tiersubjektive Tagzeit, in der unter den gegebenen Reizbedingungen die ERG-Amplitude 350 μ V nicht überschreitet, beträgt ca. 11,5 Stunden.

Während einer relativ kurzen Übergangszeit von ca. 1,5 Stunden wird der gleichbleibende Testreiz immer stärker - bis auf 1,8 mV zunehmend - beantwortet. Nach einem Sattel steigt die ERG-Amplitude dann mehr oder weniger stetig weiter an, bis sie nach Erreichen eines Höchstwertes von über 2,4 mV plötzlich wieder weit abfällt und sich - wenn auch weniger steil als beim Anstieg - nach etwa 2,5 Stunden wieder auf den Tagwert einstellt. Die Latenzzeit zeigt einen sehr ähnlichen Verlauf. Sie verkürzt sich von der ca. 24 msec für

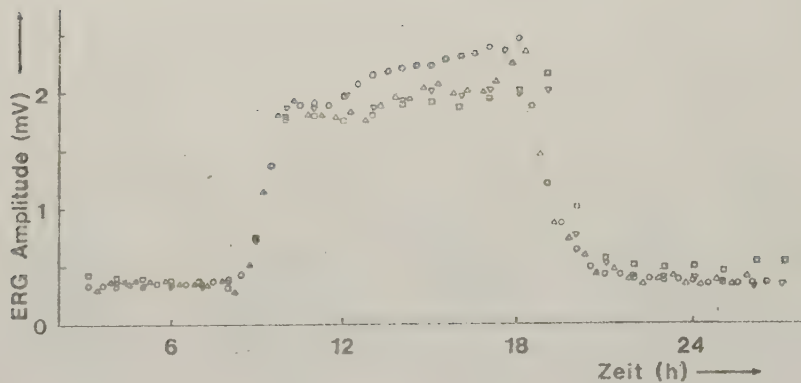


Abb. 3 Tagesverlauf der Amplitude des Eineffektes im "Dauerdunkel", bei konstanten Testreizen (Dauer: 150 msec, Intensität: ca. 10^4 lx). Die Zeitachse entspricht hierbei nicht der tatsächlichen Uhrzeit. Die Einzelkurven verschiedener Tiere und Tage sind mit ihrer Anstiegsflanke zur "Nacht"phase zur Deckung gebracht.

(O): Mittelwert aus 8 Einzeltagen eines Tieres.

(Δ $\square$ ∇): Einzeltage verschiedener Tiere.

Abszisse: Zeit in Stunden.

Ordinate: Amplitude des ersten Eineffektgipfels im ERG in mV.

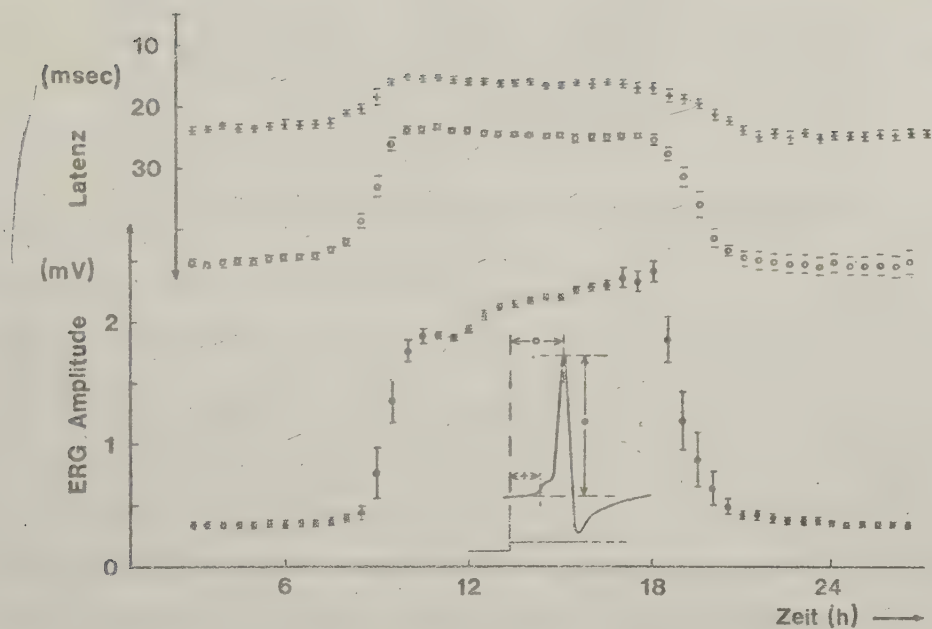


Abb. 4 Ein typischer Tagesverlauf der ERG-Amplitude und der dazugehörigen Latenzzeiten im "Dauerdunkel". (Mittelwerte und ihre mittleren Fehler aus 8 Einzeltagen eines Versuchstieres). Das Einschaltbild veranschaulicht die gemessenen Größen an einem ERG aus dem Übergang von Tag- zu Nachtauge.

(●) ERG-Amplitude, (O) Gipfellatenz, (+) Latenz des kleinen Vorpotentials.

Abszisse: Zeit in Stunden.

Ordinate (oben): Latenz in msec.

Ordinate (unten): Amplitude des ersten Eineffektgipfels im ERG in mV.

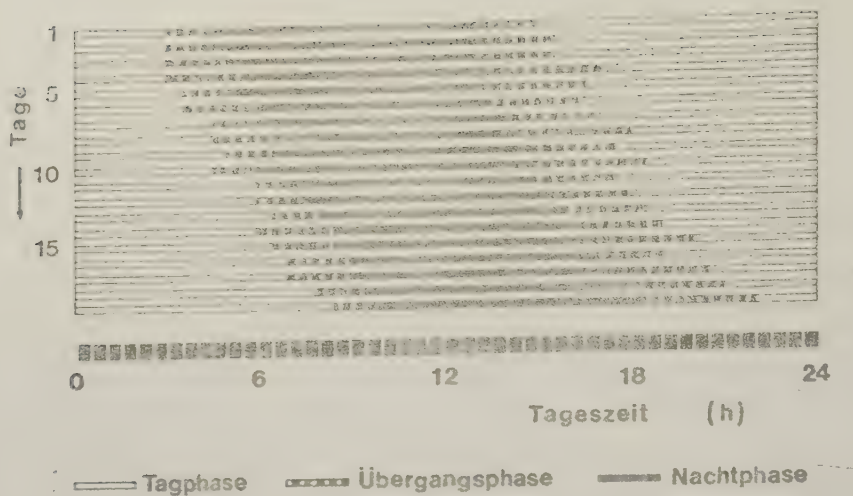


Abb. 5 Lage des "Skorpiontages" in bezug zum äußeren 24-Stundentag. Das Tier befindet sich im "Dauerdunkel" und erhält in konstantem Abstand von 30 Minuten einen Testreiz. Die Phasenverschiebung zeigt eine Periodenverlängerung gegenüber 24 Stunden an.

- (□): Tiersubjektive Tagphase, kleine ERG-Amplitude.
- (▨): Übergangszeit von der Tag- zur Nachtphase (gemessen vom letzten Tagwert der ERG-Amplitude bis zum ersten Amplitudenmaximum der Nachtphase) und von der Nacht- zur Tagphase (gemessen vom zweiten Amplitudenmaximum des ERG in der Nachtphase bis zum ersten Tagwert).
- (■): Tiersubjektive Nachtphase, große ERG-Amplitude.

Abszisse: Tatsächliche Tageszeit in Stunden, weiße Marken deuten die halbstündig wiederholten Lichtreize an.

Ordinate: Aufeinanderfolge der Versuchstage von oben nach unten. Jeder Balken steht für einen Versuchstag.

den Beginn des ERG bzw. 45 msec für den Gipfel dauernden "Tageslatenzzeit" auf 15 (bzw. 23) msec während des ersten Amplitudenmaximums. Danach verlängert sie sich bis zum zweiten nur mäßig und dann wieder sehr schnell bis zu den Tagwerten. Ein Vergleich dieser von einem Tier in 8 aufeinanderfolgenden Tagen gewonnenen ERG-Amplitudenwerte mit denen anderer Tiere (vgl. Abb.3) verdeutlicht, wie wenig der Tagesverlauf von einem Präparat zum anderen streut. (Hierfür wurden Tiere ausgewählt, deren absolute ERG-Amplituden im ersten Nachtmaximum ungefähr übereinstimmten. Präparate, die geringere Amplituden besaßen, zeigten den gleichen Zeitverlauf).

2. Die Periodik der ERG-Amplituden

Die circadianen ERG-Schwankungen wurden bei einigen Tieren über viele Monate hinweg verfolgt. Grundsätzlich haben alle Versuchstiere, gleichgültig ob sie vorher im 12:12 Stunden Licht-Dunkel-Wechsel oder unter konstanten Licht- bzw. Dunkelbedingungen gestanden haben, im "Dauerdunkel" wie im Dauerlicht eine circadiane Empfindlichkeitsschwankung beibehalten. Dabei verringerte sich die maximale ERG-Amplitude des Nachtauges innerhalb eines Monats meist weniger als 10%. Die circadiane Periodenlänge stellte sich nach einem anfänglichen Synchronlauf zum äußeren Tag innerhalb weniger Tage auf einen von 24 Stunden abweichenden Wert ein. Im "Dauerdunkel" war die Periode meist länger als 24 Stunden. Dieses Ergebnis überrascht, denn nach der ASCHOFFschen Regel (ASCHOFF, 1962) wäre für den nachtaktiven Skorpion eine Periodenverkürzung gegenüber 24 Stunden zu erwarten. Von 5 Tieren zeigten alle eine deutliche Periodenverlängerung, im Mittel um 25 Minuten. Dies bedeutet eine Periodenlänge von $\tau = 24\text{h } 25\text{min}$. Die Werte der Einzeltiere lagen dabei zwischen +6 und +40 Minuten. Ein Beispiel ist in Abb.5 dargestellt. In diesem zeigt die Nachtphase eine positive Drift von $0,29 \pm 0,08\text{h/d}$. Daraus ergibt sich eine Periodenlänge von $\tau = 24,29 \pm 0,08\text{h}$. Die Anstiegszeit beim Übergang zum Nachtauge - gemessen vom Zeitpunkt, an dem der Tageswert verlassen wird, bis zum Erreichen des ersten Maximums - dauert im

Mittel $1,8 \pm 0,09$ h, die eigentliche Nachtphase mit höchster Empfindlichkeit $7,95 \pm 0,1$ h, die Abfallszeit $2,9 \pm 0,16$ h, und damit ist, wenn man diese drei Abschnitte zur Nachtphase zusammenfaßt, das Verhältnis von Tag- zur Nachtphase im Mittel $11,64:12,65$ h. Bei gleichmäßiger Verteilung der Übergangszeiten auf beide Phasen ergibt sich ein Tag- Nachtverhältnis von ca. $14:10$ h.

Die Tiere lassen sich exogen mit Licht-Dunkel-Wechsel von 12:12 Stunden leicht synchronisieren und innerhalb weniger Tage ihre Phasenlage vollständig invertieren. Das Licht nimmt dabei als Synchronisator eine hervorragende, wenn nicht sogar die einzige Rolle ein.

Aus technischen Gründen sind die meisten Tiere nur im "Dauerdunkel" untersucht worden. Zwei jedoch konnten bei Dauerlicht und bei anschließendem Übergang zu "Dauerdunkel" getestet werden. Das Verhalten beim Umschalten von 70 lx Dauerlicht auf 0 lx "Dauerdunkel" war bei beiden gleich. In der Lichtphase hatten beide eine circadiane Periodenlänge von ungefähr $24,5$ Stunden. Die plötzliche Verdunkelung wurde mit einer sofortigen Periodenverkürzung auf ca. 23 Stunden beantwortet. Sie hielt im "Dauerdunkel" aber nur etwa 3 Tage an und ging dann ebenso scharf in eine Periodenverlängerung auf ca. $25,5$ Stunden über; ein Befund, der zwar erst durch weitere Belege gesichert werden muß, aber bereits jetzt zu Hypothesen anregt (vgl. S.31).

Aufgrund dieser Ergebnisse ist es nun interessant, der Frage nachzugehen, welche morphologischen Veränderungen der circadianen Empfindlichkeitsschwankung zugrunde liegen. Vergleiche mit den Augen anderer Arthropoden weisen sowohl auf die Möglichkeit einer Pigmentverlagerung in der Retina hin (HÖGLUND, 1966; WADA und SCHNEIDER, 1968) als auch auf physiologische Veränderungen im Sinnesepithel, die unabhängig von Pigmentbewegungen ablaufen (JAHN und WULFF, 1941). Nach Beobachtungen von PARKER (1887), SCHEURING (1913) und MACHAN (1967, 1968a) verschiebt sich in der Skorpionretina während der Dunkeladaptation eine umfangreiche Schirmpigmentmenge. Es liegt also nahe, vor allem zu prüfen,

ob solche Pigmentwanderungen in irgendeiner Weise im Zusammenhang mit der circadianen ERG-Rhythmik auftreten. In Verbindung damit will ich im folgenden die Morphologie der Medianaugen nur so weit behandeln, wie ihre Kenntnis zur Deutung der Ergebnisse aus den physiologischen Untersuchungen wichtig scheint.

II. Morphologie

1. Allgemeine Beschreibung

In den bisherigen Veröffentlichungen über den Bau der Skorpionaugen (PARKER, 1887; SCHTEURING, 1913; NACHIAN, 1967; BEDINI, 1967) ist die Morphologie dieser Sinnesorgane in ihren Grundzügen bereits geklärt worden. Die Ergebnisse meiner Untersuchungen fügen sich diesem Bild weitgehend ein.

Wie aus der Abb. 6 zu erkennen ist, entspricht der Aufbau der Medianaugen im Prinzip einem Ocellentyp, wie es auch gemäß der Homologie zu den Medianocellen von *Limulus* zu erwarten ist. Das Auge besitzt einen dioptrischen Apparat, der aus einem großen rotationssymmetrischen Kutikularzapfen - der Linse - und einem proximal anschließenden Glaskörper besteht. An ihn legen sich die praeretinale Membran und die schalenförmige Retina an. Die Retina besteht aus den Sehzellen (Retinulazellen), deren Axonen und den Pigmentzellen. Sie wird außerhalb der Berührungsfläche mit dem Glaskörper von der sehr dicht pigmentierten, einschichtigen Postretina gegen das Körperinnere abgeschlossen (Abb. 7). Am dorsalen Rand verlängert sich die Postretina röhrenförmig und verbindet die beiden Retinae direkt miteinander. Das Lumen dieses "Augenschlauchs" ist mit einer haemolympähnlichen Flüssigkeit gefüllt. Rund um die Medianaugen bildet die dorsale Epidermis des Prosomas durch ihren hohen Pigmentgehalt in den einzelnen Zellen einen wirksamen Schirm gegen Streulicht. Nur für das Auge bleibt eine pupillenartige Öffnung pigmentfrei. Hier gehen die Epidermiszellen mit einer scharfen Grenze in die hyalinen Glaskörperzellen über, so daß dem verdickten Epidermisring direkt um die Linse herum die Bedeutung einer starren Iris (vgl. Abb. 6) zukommen

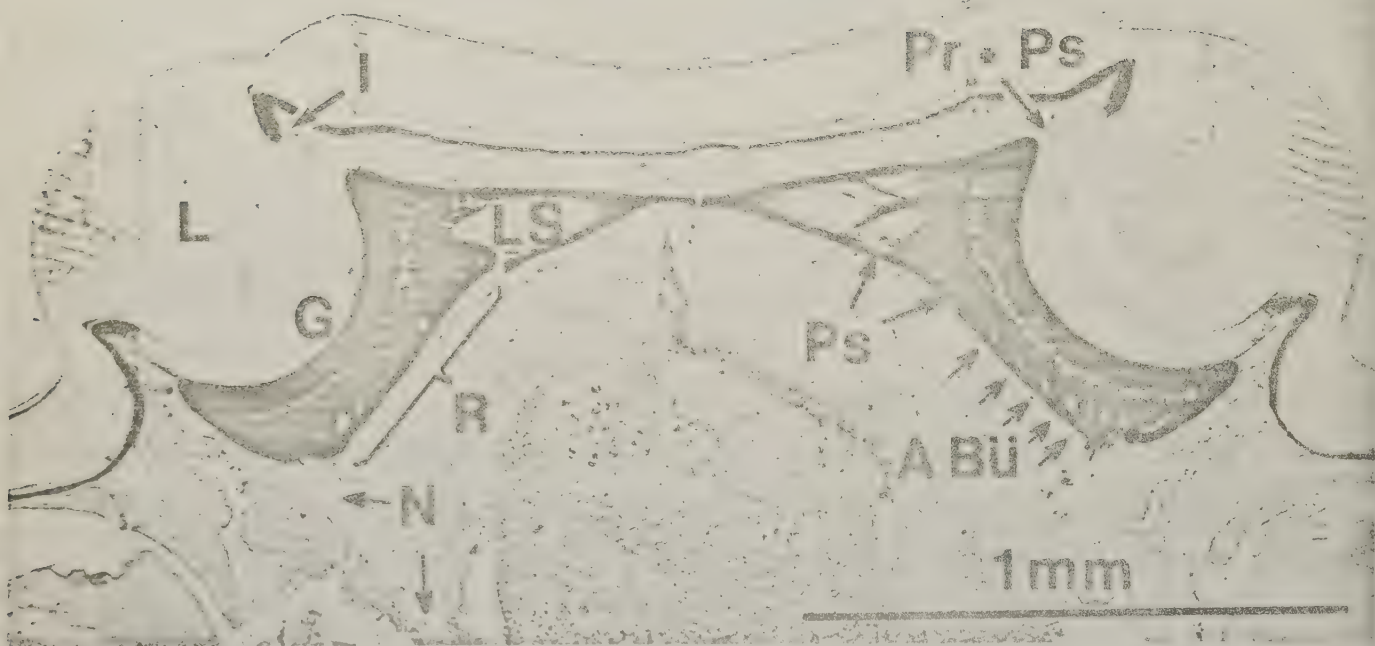


Abb. 6 Transversalschnitt durch das Prosoma in Höhe der Medianaugen. Der Augenschlauch (LS) ist hier nur angeschnitten.

(ABü) Axonbündel, (G) Glaskörper, (I) Iris, (L) Linse, (LS) Lumen des Augenschlauches, (N) Sehnerv, (Ps) Postretina, (Pr+Ps) Vereinigung aus prae- und postretinaler Membran, (R) Retina.



Abb. 7 Seitlicher Ausschnitt aus der distalen Retina eines Nachtauges. Praeretinale Membran (Pr) und Postretina (Ps) sind sehr deutlich erkennbar.

(PsM) Postretinale Membran, (G) Glaskörper.

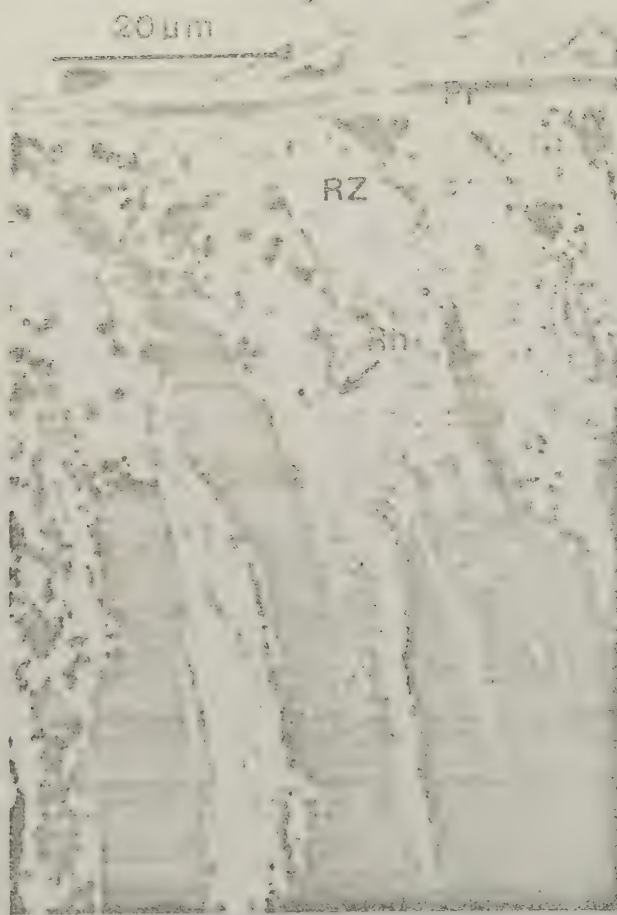


Abb. 8 Distaler Teil der Retina eines Nachtauges. Ein Rhabdom (Rh) endet ca. 25 µm vor der praeretinalen Membran (Pr).

(RZ) Retinulazelle.

kann. Am ventralen Rand des Augenbeckens treten die zum Nervus opticus gesammelten Axone der Retinulazellen aus.

2. Die Retina

Die langgestreckten Perikarien der Sehzellen durchziehen mit ungefähr 100 bis 150 μm Länge fast die gesamte Dicke der Retina. Mit ihren distalen Enden erreichen sie die praeretinale Membran, und am proximalen Ende verjüngt sich ihr Durchmesser von etwa 10 μm auf den von ca. 1 μm des Axon. Die Axone sammeln sich zu Bündeln und verlaufen am proximalen Rand der Retina zu der Austrittsstelle des Sehnerven hin. Nervenzellen sind bisher in der Retina nicht nachgewiesen worden (BEDINI, 1967). Ungefähr zwei Drittel der Sehzellenlänge ist auf einer Seite von dem im Querschnitt V-förmigen Rhabdomer besetzt. Es endet ca. 20 bis 30 μm vor der praeretinalen Membran (Abb. 8). Stets liegen 5 Sehzellen als eine Retinula mit ihren Rhabdomeren in der Weise aneinander, daß ein verschmolzenes Rhabdom entsteht. Sein Querschnitt sieht fünfstrahlig sternförmig aus (Abb. 9). Die Retinulae stehen dicht zusammen in einem hexagonalen Muster, dessen Kantenlänge auf der Retinaoberfläche bei einem adulten Skorpion (ungefähr 80 mm Körperlänge) etwa 25 μm beträgt. Rechnet man mit diesem Wert die Anzahl der Retinulae aus, so ergibt sich in grober Näherung, daß ein Medianauge ungefähr 500 bis 600 Retinulae enthält. Der Flächenaufbau der Retina erinnert damit an den eines Komplexauges.

Das Lumen der Sehzellen ist zu mehr als einem Viertel mit stark lichtabsorbierenden Pigmentgranula angefüllt. Sie sind im Durchlicht gelbbraun gefärbt und haben einen Durchmesser von ungefähr 0,5 bis 1 μm . Der relativ große Zellkern (Durchmesser etwa 10 μm , vgl. Abb. 11) liegt jeweils in der proximalen Hälfte der Sehzellen.

Zwischen den Retinulae findet man kleine spindelförmige Pigmentzellen (Abb. 10). Der Größenunterschied zwischen den beiden Zelltypen drückt ^{sich} deutlich im Volumenverhältnis ihrer Kerne aus. Das Lumen des Sehzellkerns ist etwa 8 bis 10 mal so groß wie das des Pigmentzellkerns (Abb. 11). Die Pigment-

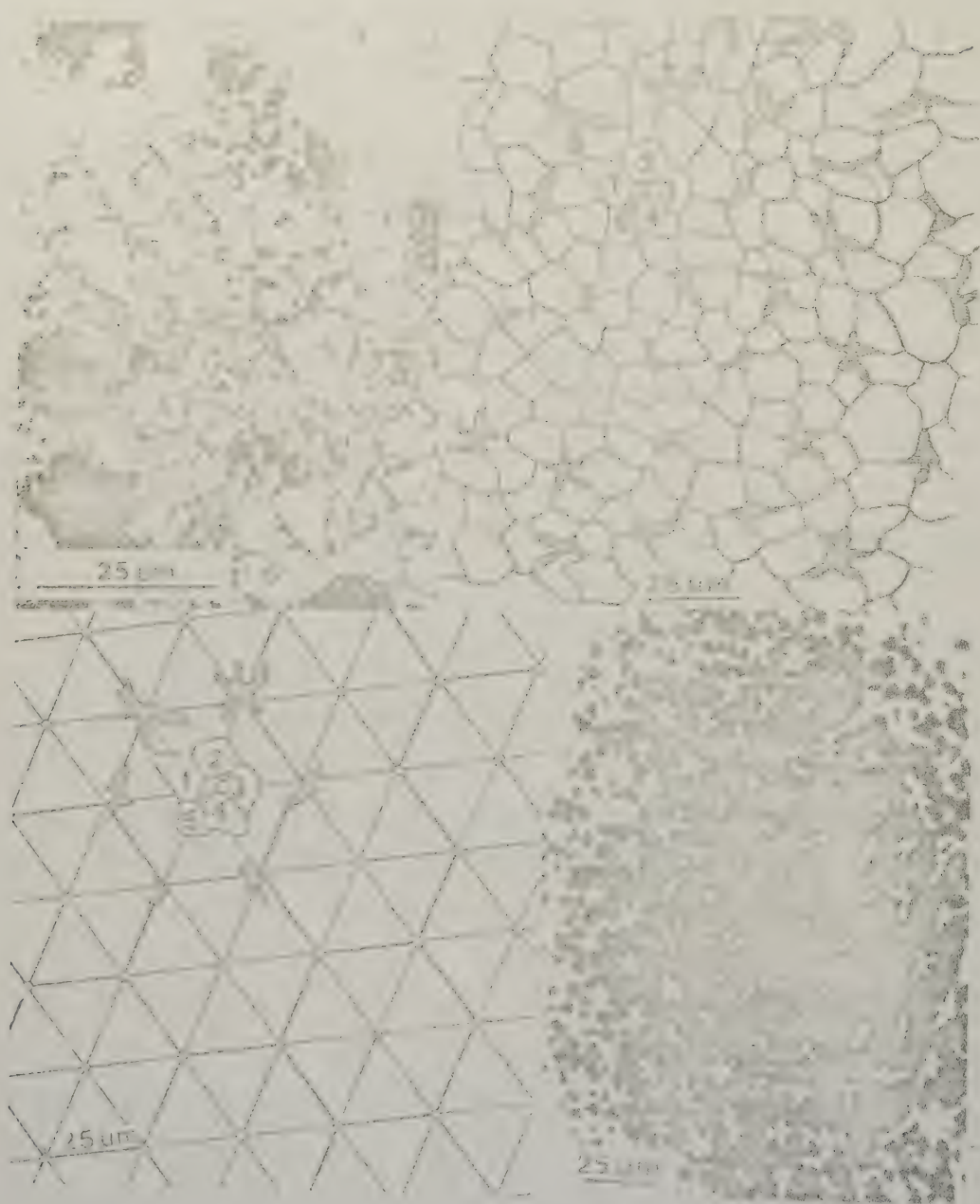


Abb. 9 (Beschreibung siehe gegenüberliegende Seite).

zu Abb. 9 Verteilung der Retinulae über die Retinaoberfläche.

oben links: Querschnitt durch das distale Ende einiger Retinulae eines Nachtauges. Die Zahlen 1 bis 5 bezeichnen die zu einer Retinula zusammengehörenden Sehzellen. Die beiden Schemata dieser Abbildung sind aus diesem Präparat gewonnen.

oben rechts: Die mit dem Zeichentubus bei starker mikroskopischer Vergrößerung aus dem nebenstehenden Präparat herausgezeichneten Begrenzungen der Rhabdome, Sehzellen und Retinulae. Die nummerierten Retinulazellen entsprechen denen im nebenstehenden Bild.

unten links: Ein Schema des hexagonalen Verteilungsmusters der Retinulae mit den Abständen, die den Mittelwerten des obenstehenden Präparates entsprechen. In ein Sechseck ist die Retinula mit den nummerierten Sehzellen und mit den sechs umliegenden Nachbarrhabdomen eingezeichnet.

unten rechts: Querschnitt durch die Retinulae eines Tagauges. In der Mitte des Bildes liegt der Schnitt ca. 30 μ m proximal der praeretinalen Membran. Die fünfstrahligen Sternchen (Rhabdome) und ihre hexagonale Anordnung sind z.T. gut zu sehen.



Abb. 10 Seitlicher Retinaausschnitt aus einem Tagauge. Die intraretinalen Pigmentzellen (PZ) und deren Ausläufer (Pfeil) sind deutlich erkennbar.

(RZ) Retinulazelle, (Pr) praeretinale Membran, (G) Glaskörper.

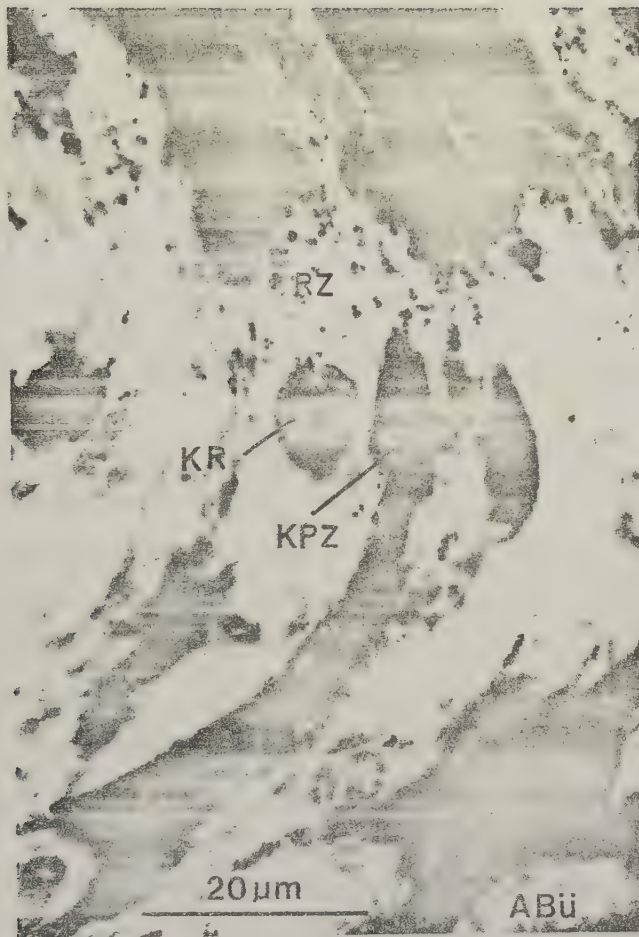


Abb. 11 Perikarien von Retinula- und von Pigmentzellen.
 Ausschnitt aus demselben Präparat wie in Abb. 10.
 (ABü) Axonbündel, (KPZ) Kern einer Pigmentzelle,
 (KR) Kern einer Retinulazelle, (RZ) Retinulazelle.

zellen sind sehr dicht mit Pigmentgranula angefüllt. Auf jede Retinula kommt ca. eine Pigmentzelle.

3. Morphologische Unterschiede zwischen Tag- und Nachtauge

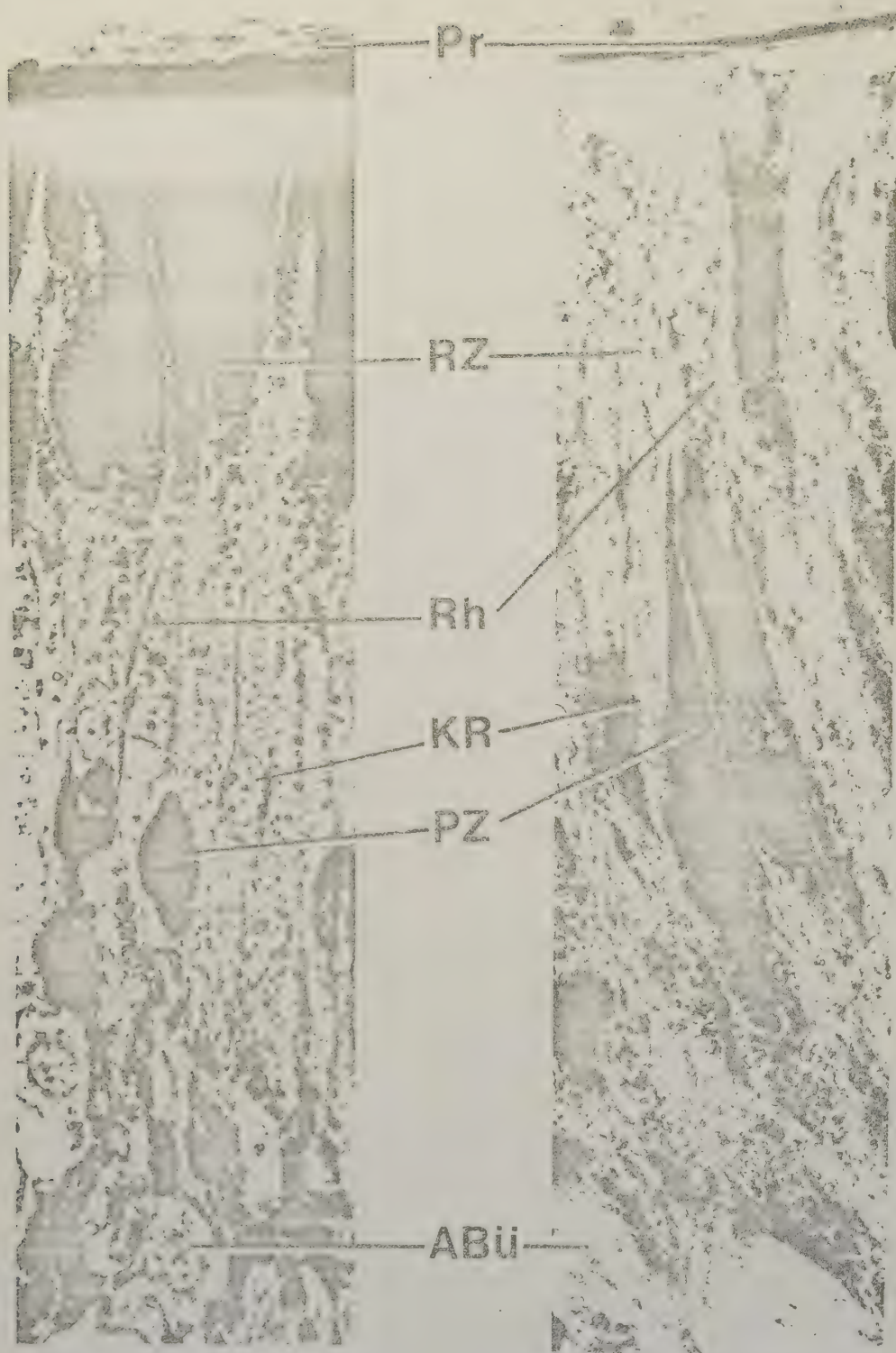
Um die Retinae in der Tag- bzw. in der Nachtphase des Auges fixieren zu können, wurden mehrere Tiere einige Wochen mit einem Licht-Dunkel-Wechsel von 12:12 Stunden synchronisiert. Danach wurden ihre Augen jeweils in der Mitte der Hell- bzw. Dunkelphase bei sehr schwachem Rotlicht präpariert und im Dunkeln mit Bouin fixiert. Die Augen aus der Tagphase kamen aus einer Helligkeit von ca. 100 lx, die aus der Nachtphase kamen aus vollkommener Dunkelheit.

In Abb. 12 sind die Retinaschnitte längs und in Abb. 13 quer zu den Sehzellen durch Tag- und Nachtauge nebeneinandergestellt. Der auffälligste Unterschied besteht in der umfangreichen Pigmentverschiebung. Im Tagauge ist das Schirmpigment innerhalb der Sehzellen in die Peripherie hinausgeschoben, im Nachtauge ist fast alles Pigment wieder zurückgezogen und gibt die Rhabdomspitzen ganz frei. Ausnahmen bilden einzelne Zellen, die dabei anscheinend fast unverändert bleiben. Bis jetzt konnte jedoch noch nicht festgestellt werden, ob der räumlichen Verteilung dieser Zellen, wie manche Schnitte vermuten lassen, eine Regel zugrunde liegt und ob damit eventuell ein Hinweis auf unterschiedliche Zelltypen gegeben ist.

Mögliche Veränderungen an den Pigmentzellen innerhalb der Retina sind lichtmikroskopisch nicht mit Sicherheit zu beobachten. Deshalb läßt sich zur Zeit auch noch nicht entscheiden, ob in ihnen ebenfalls eine Pigmentverschiebung stattfindet oder ob sie gar ihre Form verändern, wie es für viele Arthropoden schon beschrieben worden ist (Zusammenfassungen bei STUDNITZ, 1952; GLUUD, 1964).

Auch für die Sehzellen läßt sich noch keine Aussage über eventuelle retinomotorische Bewegungen machen. Dazu sind unbedingt elektronenoptische Untersuchungen notwendig. In den Pigmentzellen der Pestretina sowie in der "Iris" konnte ich ebenfalls keine Veränderungen feststellen.

Der für die Sehfunktion bedeutsamste Effekt dürfte somit



10 μ m

Tag

Nacht

Abb. 12 (Beschreibung siehe gegenüberliegende Seite).

zu Abb. 12

Längsschnitt durch die Retina eines Tag- (links) und eines Nachtauges (rechts). Die Pigmentgranula sind im Tagauge in die distalen Enden der Sehzellen geschoben.

(ABü) Axonbündel, (KR) Kerne der Retinulazellen,
(Pr) praeretinale Membran, (PZ) Pigmentzellen, (Rh) Rhabdome, (RZ) Retinulazellen.

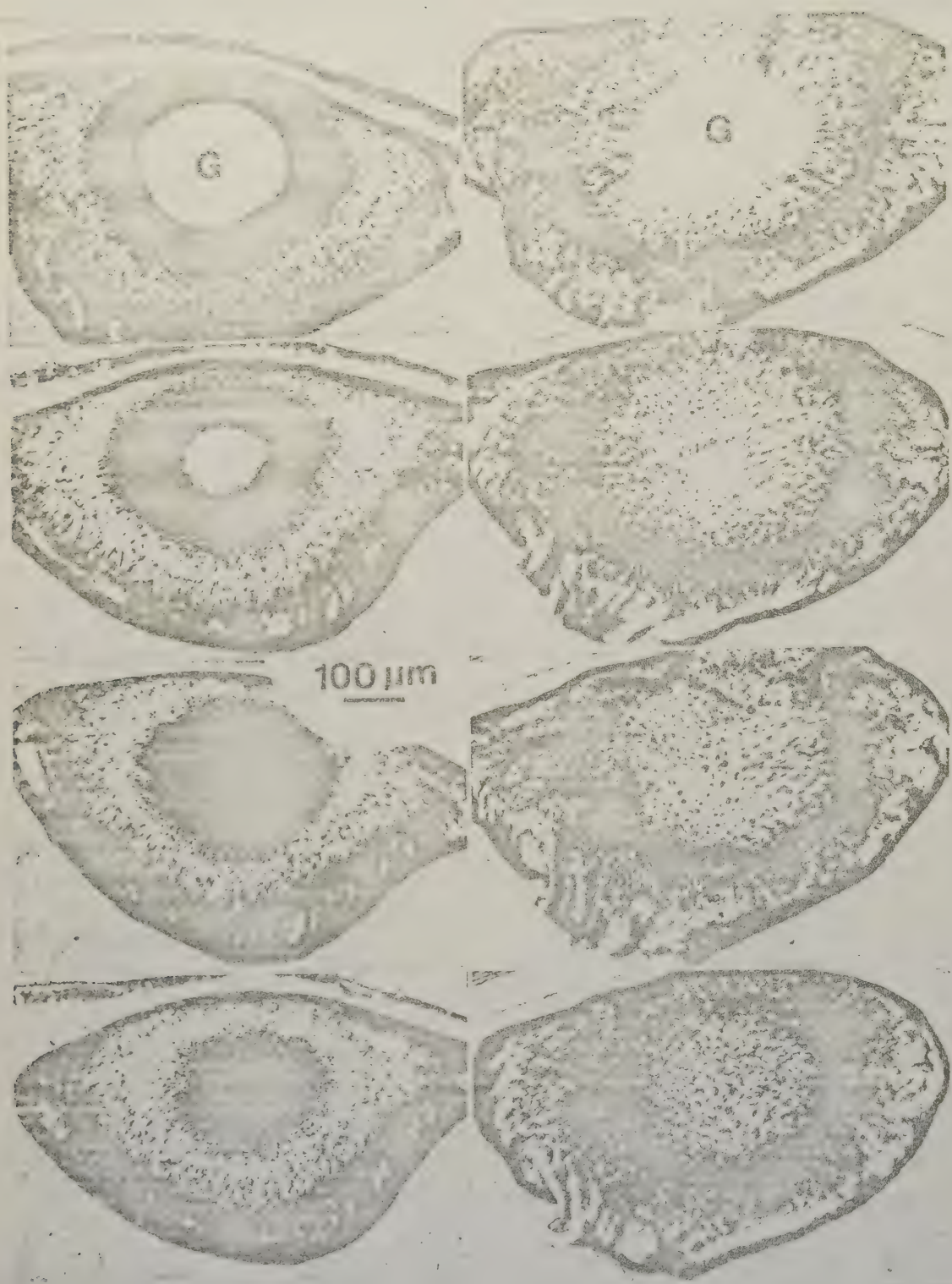


Abb. 13 (Beschreibung siehe gegenüberliegende Seite).

zu Abb. 13

Flachschnitte durch die Retina in der Tag- (links) und in der Nachtphase (rechts). Wegen der Becherform liegen die jeweils distaleren Augenbereiche im Zentrum des Schnittes. Die Schnitte in der zweiten Reihe liegen in der Mitte gerade in Höhe der praeretinalen Membran.

Zwischen der oberen und der zweiten Reihe und zwischen der dritten und der vierten wurde jeweils ein Schnitt ausgelassen.

Schnittdicke 10 μm .

(G) Glaskörper.

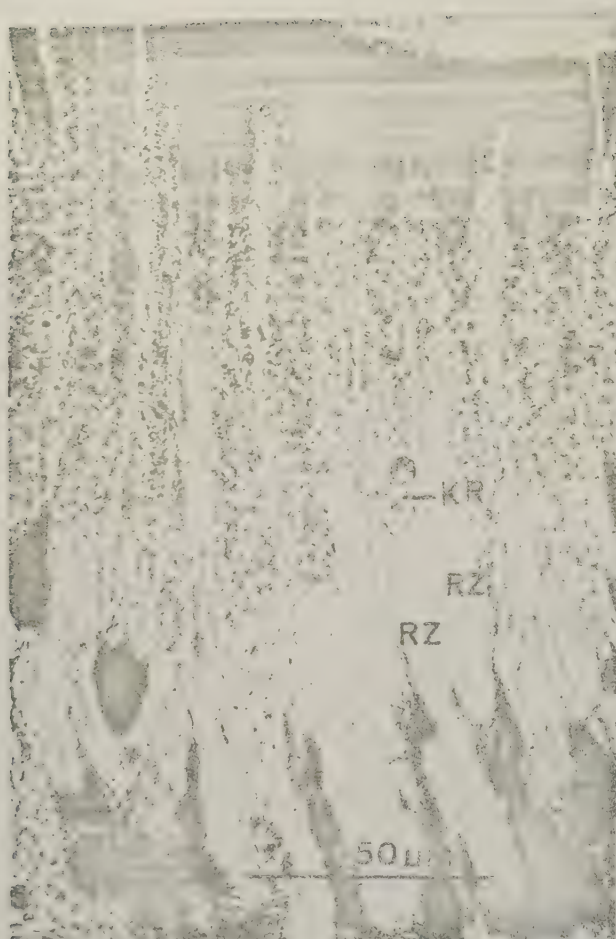


Abb. 14 Längsschnitt durch die Retina eines wochenlang dunkeladaptierten Medianauges, das in der elektro-physiologisch bestimmten Tagphase fixiert worden ist. Die Retinulazellen (RZ) können bis zur prae-retinalen Membran (Pr) verfolgt werden.

Schnittdicke ca. 6 μm , ungefärbter Schnitt, Phasenkontrast.

(KR) Kern einer Retinulazelle.

durch die physikalische Filterwirkung der wandernden Pigmentgranula in den Sehzellen gegeben sein. Denn im Tagauge behindern sie den Lichtfluß in die Rhabdome durch einen ca. 50 µm dicken Pigmentschirm (vgl. Abb. 12, 13, 14). Alles Licht, das im Tagauge die Rhabdome erreicht, muß dieses Filter passieren (vgl. Abb. 13). Im Nachtauge dagegen dringt das Licht ungehindert in die Rhabdome und kann diese sogar bis in größere Tiefen auch von der Seite her erreichen. Dementsprechend sind als physiologische Konsequenzen neben dem Empfindlichkeitsunterschied zwischen Tag- und Nachtauge, möglicherweise Unterschiede in der spektralen Empfindlichkeit und vielleicht auch Streulichteefekte innerhalb der Retina zu erwarten.

Nun sind aber die beiden Phasen des Auges nach einem physiologischen Kriterium definiert worden, nämlich nach der Höhe des ERG (s.S. 7). Infolgedessen könnte das hier beschriebene Verfahren noch nicht ausreichen, die histologisch gefundenen Veränderungen mit diesen Phasen zu korrelieren. Deshalb wurden auch Augen untersucht, deren physiologische Zustände zur Zeit der histologischen Fixierung jeweils durch ERG-Ableitungen festgestellt worden waren. Da schon länger bekannt ist, daß das Schirmpigment im Gefolge einer Dunkeladaptation in die proximale Sehzellenhälfte verlagert wird (PARKER, 1887; SCHEURING, 1913; MACHAN, 1966, 1968a) (vgl. Abb. 12, 13), mußte zunächst geprüft werden, ob das Pigment während der elektrophysiologisch nachgewiesenen Tagphase auch in Dunkelheit in die distalen Sehzellenspitzen wandert.

Zu diesem Zweck wurde ein Skorpion mehrere Tage im "Dauerdunkel" gehalten und die Tagesperiodik seiner ERG-Amplituden verfolgt. Dann wurden die Medianaugen des Tieres zu einem Zeitpunkt, als es sich - laut ERG-Amplitude - mitten in der Tagphase befand, in vollkommener Dunkelheit mit Bouin fixiert.

Das Ergebnis in Abb. 14 zeigt, daß das Schirmpigment trotz tagelanger Dunkeladaptation während der Tagphase in distaler Position liegt.

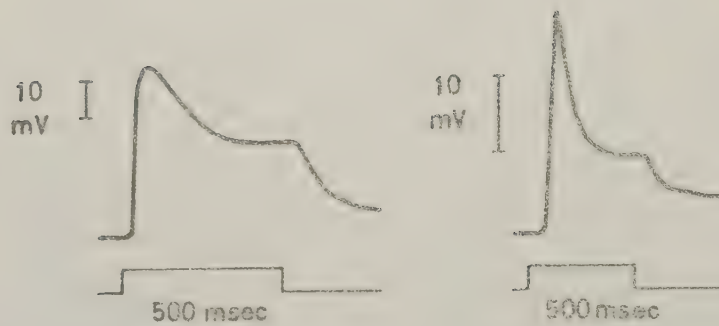


Abb. 15 Generatorpotentiale einzelner Sehzellen aus einem Nachtauge (links) und aus einem Tagauge (rechts).
oben: Generatorpotential mit Amplitudeneichung.
unten: Reizschreibung.

III. Elektrophysiologie

In den nachfolgend beschriebenen Experimenten sollte das ERG der Medianaugen unter verschiedenen Bedingungen genauer analysiert werden. Da die Retina der Skorpione - ähnlich wie z.B. die der Tintenfische (THERMAN, 1940) - keine nervösen Elemente enthält, sollte das ERG als räumlich-zeitliche Summe von Rezeptorpotentialen erklärbar sein. Zur Prüfung dieser Annahme war es also notwendig, diese beiden Erregungsformen miteinander vergleichen zu können. Daher mußten neben dem ERG auch Generatorpotentiale von einzelnen Zellen untersucht werden. Zuerst sollen einige Ergebnisse dieser Einzelzellableitungen beschrieben werden und danach die ERG-Form in Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen.

1. Das Generatorpotential der Retinulazellen

Mit Kapillarmikroelektroden gelang es, die Belichtungspotentiale einzelner Sehzellen in den Medianaugen intrazellulär abzuleiten.

Die Membranruhepotentiale lagen bei -20 bis -50 mV. Belichtungsreize wurden stets mit einer phasisch-tonischen Membrandepolarisation beantwortet, wie sie seit langer Zeit von Sehzellen wirbelloser Tiere verschiedenster systematischer Stellung bekannt ist (HARTLINE et al., 1952; BURKHARDT und AUTRUM, 1960; KUWABARA and NAKA, 1961; WASHIZU, 1964).

20 bis 90 msec nach Reizbeginn antworten die Retinulazellen mit einer schnellen Depolarisationsphase, die bis zu 50 mV Höhe erreichen kann (Abb. 15). Nach einer Spitze fällt die Erregung dann auf ein Plateau ab, das für die Dauer des Reizes erhalten bleibt und sogar noch leicht ansteigen kann (Abb. 16). Nach Reizende sinkt es dann, in dem genannten Fall mit etwa 40 msec Verzögerung zunächst rasch, dann langsam ab. Erst nach 6 bis 10 Sekunden wird das Ruhepotential wieder erreicht.

Die Amplitude der Erregungsspitze und die Plateauhöhe scheinen bei verschiedenen Versuchsbedingungen unterschiedlich korreliert zu sein. Verschiedene Zellen können bei gleich hohen Plateaus unterschiedlich hohe Spitzen haben



Abb. 16 Generatorpotential bei einem 16 Sekunden langen Reiz.

oben: Generatorpotential mit Amplitudeneichung.

unten: Reizschreibung mit Zeiteichung.

(vgl. Abb.15). Es wurden z.B. Zellen gefunden, die bei einem Plateau von 10 mV eine Spitzenamplitude von 30 bis 40 mV hatten. Andere Zellen erreichten dieses Plateau schon bei einer Spitzenhöhe von 25 mV und weniger. Sie zeigten dann Plateauhöhen von 30 mV bei Spitzenamplituden von 50 mV. Interessanterweise stammen alle Zellen, bei denen das Amplitudenverhältnis Plateau zu Spitze 1:3 bis 1:4 beträgt, aus Augen von Skorpionen, die - nach den Tierhaltungsbedingungen zu schließen während des Experiments in der Tagphase gewesen sein dürften. Die Generatorpotentiale mit dem Amplitudenverhältnis 1:1,6 bis 1:2,5 dagegen sind von Zellen aus einer Nachtaugenretina abgeleitet worden. Dies ist vielleicht ein Hinweis darauf, daß Tag-Nachtunterschiede in den Sehzellen selbst vorkommen. Zur Absicherung dieser Aussage reicht jedoch das vorliegende Material noch nicht aus.

Ein weiteres Beispiel für unterschiedliche Eigenschaften der Anfangsspitze und des Plateaus im Generatorpotential ergibt sich aus den Adaptationsversuchen, wie sie auf Seite 21 näher beschrieben sind.

Die Abhängigkeit der Spitzenamplitude von der Reizlichtintensität ist für ein Beispiel in Abb.17 dargestellt. Die Meßwerte liegen angenähert auf einer sigmoiden Kurve. Über einen Intensitätsbereich von 4 log Einheiten wächst die Amplitude von 1,5 auf 50 mV an. Die Kurve verläuft über ungefähr zwei log Einheiten linear zum Logarithmus der Intensität.

2. Alles-oder-Nichts-Potentiale in der Retina

Vornehmlich im Bereich des Sehnervenaustritts kann man aus Retinulazellen Alles-oder-Nichts-Potentiale, die dem Generatorpotential aufsitzen, intrazellulär ableiten (Abb. 18). Diese Impulse können direkt nach dem Anstechen einer Sehzelle Amplituden von 5 bis 10 mV aufweisen. Sie verkleinern sich danach jedoch meist innerhalb weniger Minuten auf 1 bis 2 mV. Form und Polarität sprechen für intrazellulären Abgriff. Trägt man den reziproken Abstand der Impulse über der Zeit auf und vergleicht dieses Kurvenbild mit der Form des dazu-

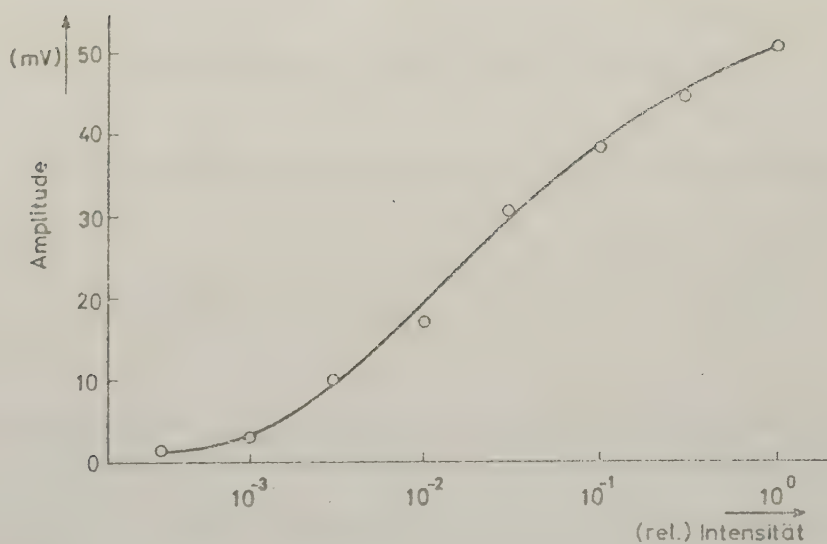


Abb. 17 Abhängigkeit der Spitzenamplitude des Generatorpotentials einer Sehzelle von der Reizintensität.

Abszisse: relative Intensität des Reizes.

Ordinate: Amplitude der Spitze des Generatorpotentials in mV.

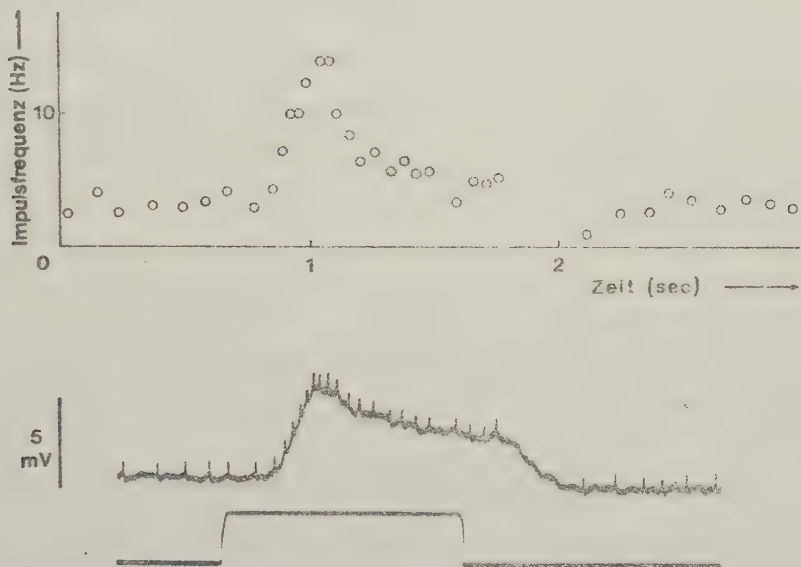


Abb. 18 Retinale Alles-oder-Nichts-Potentiale.

untere Bildhälfte: Generatorpotential mit überlagerten Impulsen.

Originalregistrierung mit Reizschreibung und Amplitudeneichung, Zeitachse wie oben.

obere Bildhälfte: Überjedem Impuls der Originalregistrierung der reziproke Wert seines Abstandes zum vorhergehenden Impuls.

Abszisse: Zeit in Sekunden.

Ordinate: reziproke Impulsabstände in Hz.

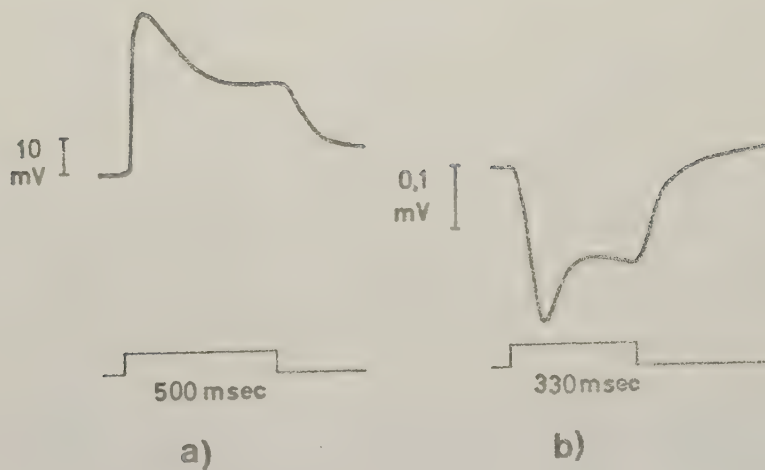


Abb. 19 Vergleich zwischen einem Generatorpotential (a) und einem ERG (b). Das ERG ist mit einer Glaskapillarelektrode (Spitzendurchmesser unter $50\text{ }\mu\text{m}$) und einem Gleichspannungsverstärker abgeleitet worden. Cornea-positiv weist in diesem Fall nach oben.

oben: Ableitung mit Amplitudeneichung.

unten: Reizschreibung.

gehörigen Generatorpotentials, so findet man einen gleichartigen Verlauf (Abb.18). In manchen Zellen treten frequente Impulse auch während der Dunkelheit auf. Bei Belichtung verringern aber auch sie ihre Abstände entsprechend dem Verlauf des Generatorpotentials (Abb.18). Diese beschriebenen Alles-oder-Nichts-Potentiale konnten immer nur so lange beobachtet werden, wie sich die Elektroden spitze innerhalb einer Sehzelle befand. (Dies kann am Ruhe- und am Belichtungspotential erkannt werden.)

Hinweise auf irgendeine Form von neuraler Interaktion zwischen den Sehzellen habe ich innerhalb der Retina nicht gefunden.

3. Das Elektoretinogramm der Medianaugen

Wegen der Ergebnisse aus den Tagesrhythmik-Experimenten habe ich die ERG-Ableitungen bei genau bekannter Tagesphase der Tiere registriert und zu dem Zweck die Versuchstiere immer wieder auf ihre Phasenlage geprüft. Aus diesem Grund wurden auch die ERG-Untersuchungen meist an Langzeitpräparaten gemacht, d.h. solche ERG sind mit Platinelektroden und mit dem AC-Vorverstärker abgeleitet worden. In solchen Fällen müssen also bei der Beurteilung der ERG-Form differenzierende Einflüsse berücksichtigt werden. (s.a. Methode, Abb.1)

ERG-Formen, die dem Generatorpotential so ähnlich sind wie die in Abb.19b) und 35a), scheinen die schon erwähnte Annahme, daß das ERG die räumlich-zeitliche Summe von Rezeptorpotentialen der Sehzellen ist, zu bestätigen. Nun lassen sich diese einfachen Formen des ERG aber nur in der Tagphase und in der Nachtphase bei sehr geringen Intensitäten beobachten (vgl. Abb.20). Schon ab Reizintensitäten von ca. 1 lx aufwärts wird das ERG eines Medianauges in der Nachtphase zunehmend polyphasisch (vgl. Abb.20 ab 0,001%) und weicht von dem Bild des Generatorpotentials erheblich ab.

3.1. Das ERG des Nachtauges

Das ERG vom dunkeladaptierten Nachtauge sei anhand eines Beispiels (Abb.20) erläutert. Kurz nach Reizanfang beginnt mit einer Latenzzeit, die je nach Reizstärke zwischen 20 und 100 msec schwankt (vgl. Abb.27,29), eine schnelle, meist zweigipfelige und immer corneonegative "Einantwort" (Einwirkung).

Bei niedrigen Reizintensitäten tritt demnach folgende corneapositive "Ausantwort" (Auswirkung) auf. Ihre Latenzzeit

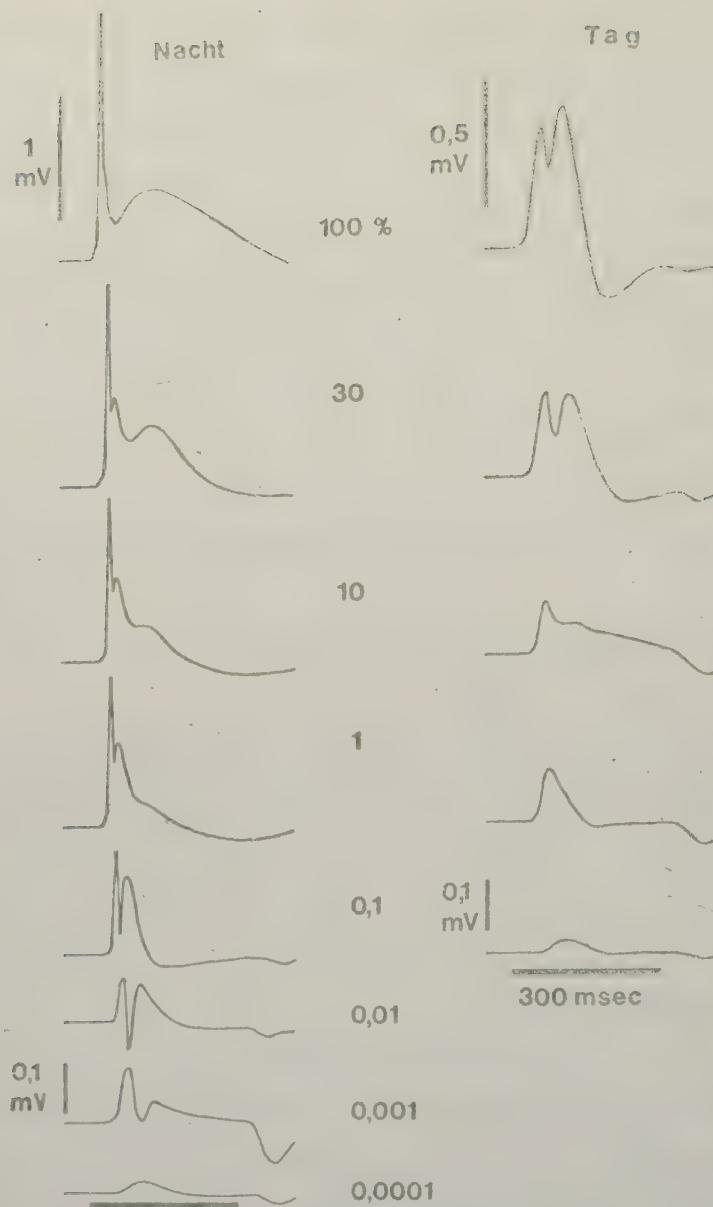


Abb. 20 Die ERG-Form bei verschiedenen Reizintensitäten in der Tag- (rechts) und in der Nachtphase (links) unter denselben Versuchsbedingungen.

Intensität: $I=100\%$ entspricht ca. $7 \cdot 10^5$ lx.

vertikale Balken: Amplitudeneichung.

horizontale Balken: Reizdauer.

nach dem Reizende ist etwa so groß wie die der Einantwort nach Reizbeginn. Bei DC-Ableitung bleibt im ERG nach dem Eineffekt für die Dauer des Reizes ein "Plateau" bestehen (wie im Tagauge, vgl. Abb.1). Dieses Plateau ist in Abb.2o wegen der AC-Ableitung nicht zu sehen.

Bei mittleren und höheren Reizintensitäten (vgl. Abb.2o, Nachtauge ab 1%) folgt gleich nach der zweigipfeligen Einantwort eine ebenfalls corneanegative, jedoch langsamere Welle, die ^{im} folgenden "langsame Phase" genannt wird. Sie ist von dem ERG-Plateau unterscheidbar, da sie auch unter Ableitbedingungen, bei denen das ERG-Plateau nicht mehr zu sehen ist (vgl. Abb.2o), noch beobachtet werden kann und in ihrem Verlauf von dem des Plateaus auch bei DC-Ableitung abweicht (vgl. Abb.3oa).

Der Eineffekt beginnt regelmäßig mit einer kleinen, mehr oder weniger deutlichen negativen Vorwelle, deren Amplitude aber meist unter 100 uV bleibt (vgl. Abb.2o, 100%; Abb.4 und 26). Der darauffolgende erste Gipfel des Eineffektes erreicht in der Regel die höchste Amplitude im gesamten ERG. Sein Wert liegt im Nachtauge bei einer Reizintensität von ca. 10^6 lx gewöhnlich zwischen 2 und 2,5 mV (Abb.21). Er wächst bei niedrigen Intensitätsstufen (10^{-6} bis 10^{-4}) zunächst langsam und dann von 10^{-4} ab über fast 4 log Einheiten linear zum Logarithmus der Reizstärke an. Der zweite Gipfel wächst bei steigender Lichtintensität parallel mit dem ersten an (Abb.21), erreicht aber schon bei einer relativen Intensität von 10^{-3} einen Sättigungswert. Da der erste Gipfel des Eineffektes - mit Ausnahme von speziellen Adaptationsfällen (vgl. Abb.3oa) - am leichtesten beobachtbar ist, wurde stets seine Amplitude ausgewertet, wenn mit dem ERG in den Medianaugen Adaptationsvorgänge, Tagesrhythmik und spektrale Empfindlichkeit untersucht werden sollten.

Die langsame ^{Phase} konnte nur im Nachtauge und dort erst bei höheren Intensitäten beobachtet werden (vgl. Abb.2o ab 1%). Verfolgt man den Tagesverlauf der Amplituden von den einzelnen ERG-Phasen - für die Methode siehe Rhythmikversuche - dann kann man beim Übergang vom Tag- zum Nachtauge erkennen,

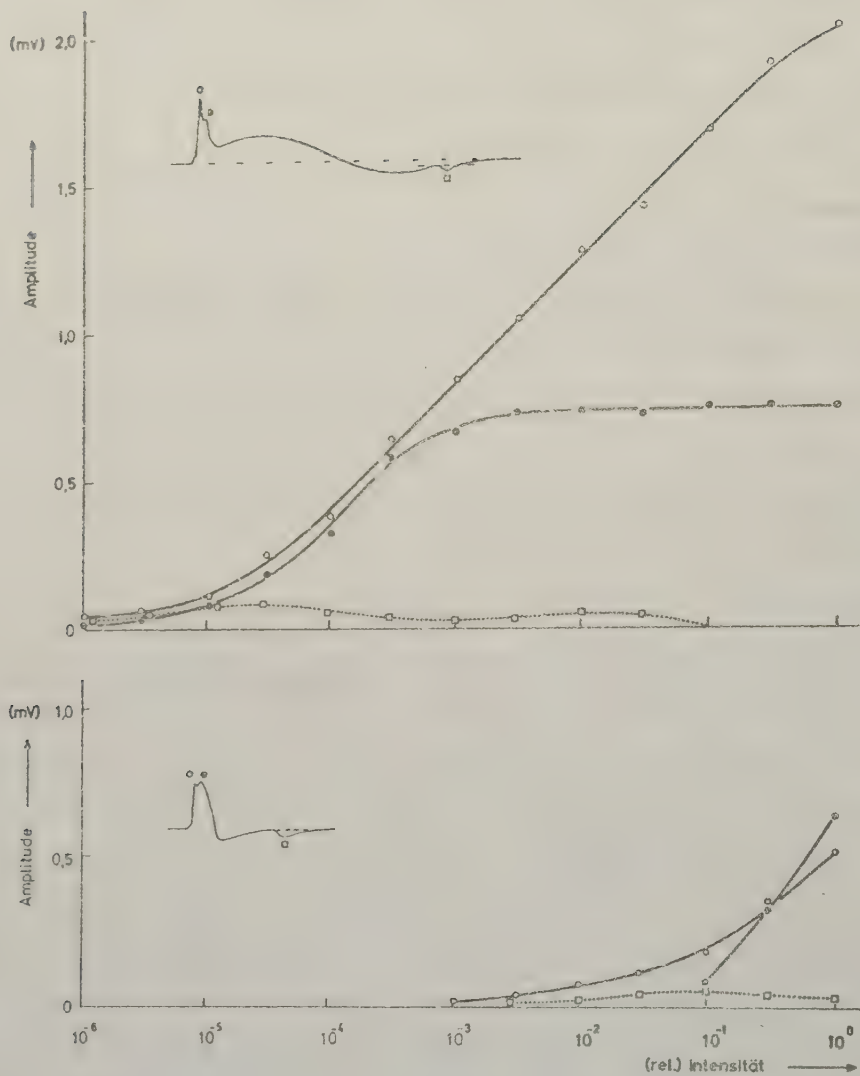


Abb. 21 Die Amplituden aus den ERG der Abb.20 in Abhängigkeit von der Reizintensität.

obere Bildhälfte: Nachtauge, untere Bildhälfte: Tagauge.
 Amplitude des ersten (○) und des zweiten (●) Gipfels vom Eineffekt; (□) Amplitude des Auseffektes.
 Abszissen: relative Reizintensität.
 Ordinaten: Amplitude in mV.

wie die langsame Phase erst sichtbar wird, nachdem die Gipfel des Eineffektes bereits weit ausgeprägt sind und sich kaum mehr verändern (Abb.22a). Beim Übergang vom Nacht- zum Tagauge nimmt die Amplitude der langsamen Phase früher und schneller ab als die der Eineffektgipfel (Abb.22b). Auch während der Nachtphase verändern sich die Amplituden dieser ERG-Phasen unabhängig voneinander (Abb.22c).

Die Ableitungen unter AC-Bedingungen ergeben für die langsame Phase immer eine kleinere Amplitude als für den ersten Gipfel des Eineffektes. Leitet man dagegen unter DC-Bedingungen ab, so kann man ähnliche ERG erhalten wie in Abb.30a, aber mit so hoher langsamer Phase, daß diese die größte Amplitude des ERG hat.

Der Auseffekt ist im Nachtauge (wie auch im Tagauge) bei kleinen Reizintensitäten deutlich zu sehen (vgl. Abb.20,21), je stärker aber ein Auge dunkeladaptiert bzw. je größer die Reizintensität ist, umso weniger wird die Auswelle sichtbar.

3.2. Das ERG des Tagauges

Das ERG des dunkeladaptierten Tagauges besteht bei AC-Ableitung aus Ein- und Auseffekt. Die langsame Phase konnte in ihm nicht beobachtet werden. Der Eineffekt kann ein- oder zweigipfelig sein. Das ist von Präparat zu Präparat verschieden, so daß als Ursache dafür Unterschiede in der Elektrodenlage angenommen werden müssen (vgl. Abb.20 mit Abb.35).

Die Amplitude des ersten Eineffektgipfels erreicht im Beispiel der Abb.20 und 21 maximal nur 0,5 mV gegenüber mehr als 2 mV im Nachtauge. Der Unterschied zwischen Tag- und Nachtauge ist manchmal noch größer (s. Rhythmikversuche Abb.4). Im Tagauge kann der zweite Gipfel des Eineffektes größer werden als der erste (vgl. Abb.20,21).

Das Plateau nach dem Eineffekt ist, abhängig von der Ausmaß, in dem kapazitive Anteile im gesamten Präparat und Ableitungssystem wirksam werden, mehr oder weniger gut zu sehen. Bei DC-Ableitung ist es deutlich ausgebildet (vgl. Abb.1,19) und fällt nach Reizende gegen die Nulllinie ab. Das Bild

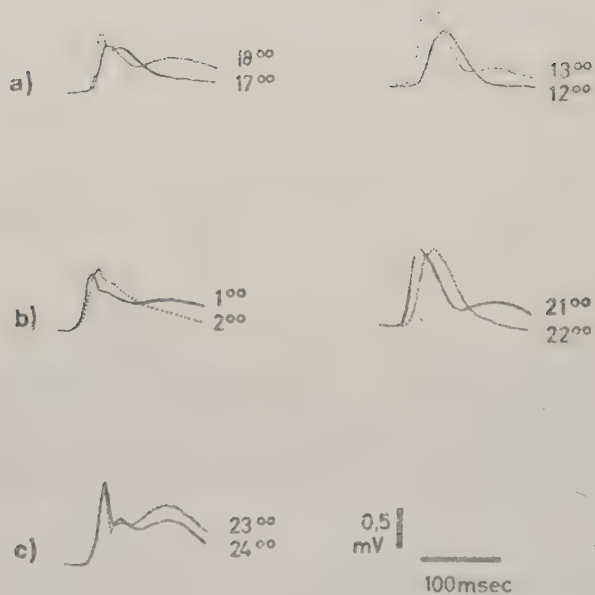


Abb. 22 Die langsame Phase in den ERG zweier Tiere beim Übergang zur Nachtphase (a) und zur Tagphase (b).

(—) ERG eine Stunde früher aufgenommen als (.....).

c) ERG eines weiteren Tieres zu verschiedenen Zeiten während der Nachtphase.

vertikaler Balken: Amplitudeneichung.

horizontaler Balken: Zeiteichung.

des ERG gleicht in diesem Fall vollkommen dem eines Generatorpotentials. Wenn man nun ein solches ERG bei AC-Ableitung betrachtet, d.h. bei herausgefilterten tiefen Frequenzanteilen und Gleichspannungskomponenten, dann ist das Plateau nicht mehr zu sehen, und sein Abfall nach Reizende ist zum positiven Auseffekt geworden (vgl. Abb.1).

3.3. Die Abhängigkeit des ERG von der Dauer des Reizes
Im dunkeladaptierten Nachtauge zeigen die einzelnen Phasen des ERG unter AC-Bedingungen nur geringe Veränderungen in Abhängigkeit von der Reizdauer (Abb.23).

Die beiden Gipfel des Eineffektes erreichen bereits bei einer Reizdauer von 15 msec ihre volle Höhe. Längere Lichtreize gleicher Intensität lösen keinen höheren Eineffekt aus.

Auch die langsame Phase erreicht schon bei einer Reizdauer von 15 msec fast ihre endgültige Größe. Bei einer Reizverlängerung bis 250 msec wird sie nur noch geringfügig länger, darüberhinaus nimmt sie nicht weiter zu.

Die Amplitude der Ausantwort im Tagauge nimmt mit zunehmender Reizdauer ab (Abb.24,25). Zu diesem Befund paßt sehr gut eine Beobachtung am Generatorpotential der Retinulazellen, das bei verschiedenen Reizlängen registriert worden ist (Abb.24). Nach Reizende fällt die Erregung kurzzeitig schnell und dann sehr langsam ab. Mißt man die Höhe dieser schnellen Abfallphasen und bringt sie in Beziehung zur Reizdauer, so erhält man einen Kurvenverlauf, der mit dem der Amplitude des Auseffektes nahezu identisch ist (Abb.25).

3.4. Die Abhängigkeit der ERG-Form von der Wellenlänge
monochromatischer Reizlichter

Die Form des ERG ist deutlich von der Wellenlänge des Reizlichtes abhängig. Die einzelnen Phasen verhalten sich unterschiedlich.

Vergleicht man ERG, die unter sonst gleichen Bedingungen bei quantengleichen Spektrallichtern z.B. bei den Wellenlängen 327 nm und 513 nm abgeleitet wurden (Abb.26a,b), so fällt auf, daß im UV-Licht ein ERG entsteht, dessen Eineffektgipfel und langsame Phase schärfer voneinander abgesetzt sind als

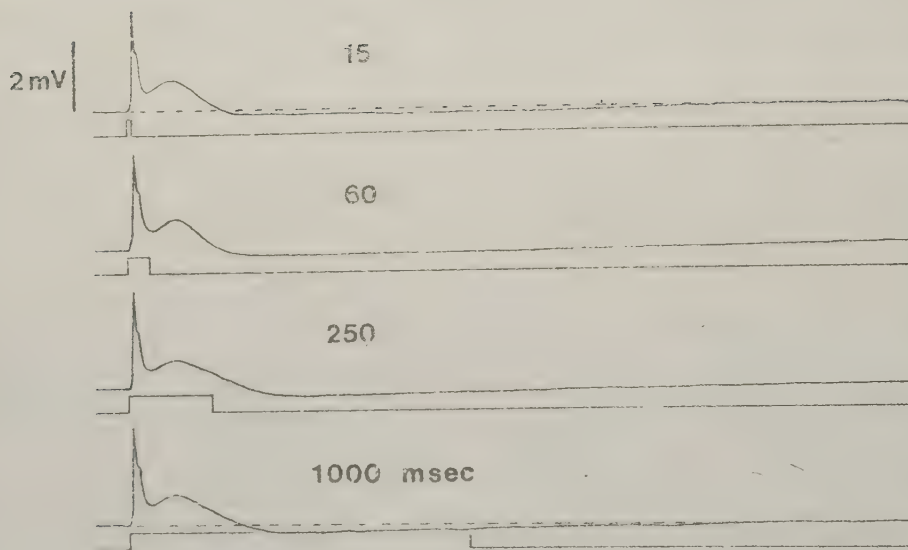


Abb. 23 Das ERG eines dunkeladaptierten Nachtauges bei verschiedenen Reizlängen. Das ERG ist jeweils über dem dazugehörigen Reiz dargestellt.

vertikaler Balken: Amplitudeneichung.

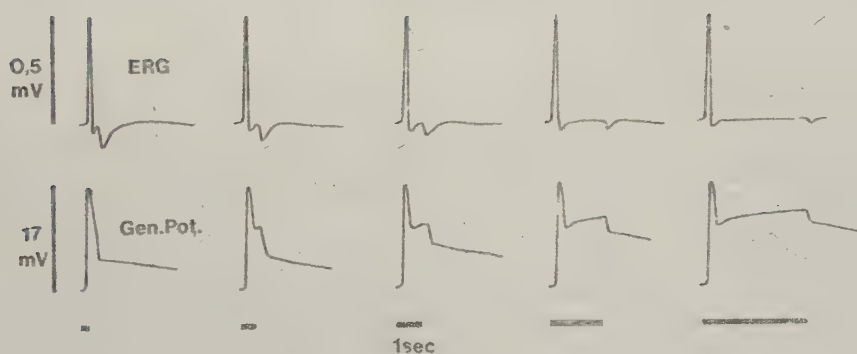


Abb. 24 ERG-Auseffekt (oben) und Generatorpotential (unten) bei verschiedenen Reizlängen. Beachte im Generatorpotential den kurzzeitig schnellen Erregungsabfall nach Reizende.

vertikale Balken: Amplitudeneichung.

horizontale Balken: Reizdauer.

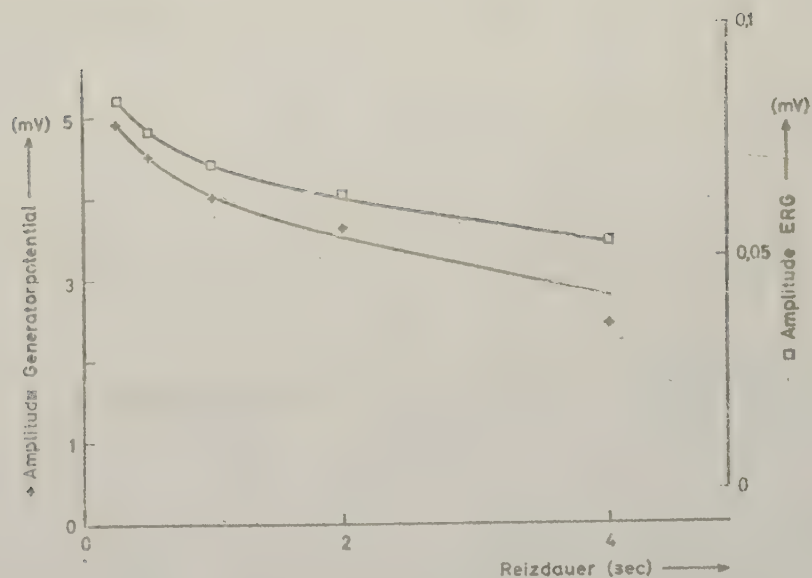


Abb. 25 Vergleich zwischen den Abhängigkeiten der Amplitude des Auseffektes im ERG (□) und der des schnellen Abfalls im Generatorpotential (+) nach Reizende. Damit die Kurven nicht aufeinander liegen, wurden die Nullpunkte der Ordinaten unterschiedlich gewählt.

Abszisse: Reizdauer in Sekunden.

Ordinate links: Amplitude des schnellen Erregungsabfalls im Generatorpotential nach Reizende in mV.

Ordinate rechts: Amplitude des ERG-Auseffektes in mV.

bei langwelligem Reizlicht. Die Amplitude der langsamen Phase ist bei 513 nm ca. 1,5 mal so hoch wie bei 327 nm, während die der Eineffektgipfel fast gleich groß bleibt. Schreibt man die ERG auf stärker gedehnter Zeitachse übereinander, so wird ein Unterschied in den Latenzen deutlich. ERG mit gleich hohem Eineffektgipfel haben bei UV-Reizlicht eine 5 bis 10 msec längere Latenz als bei langwelligerem Licht (Abb. 26c). Die Latenz bleibt im UV auch dann noch länger, wenn der Eineffektgipfel größer ist als bei einem langwelligem Reizlicht (Abb. 26d). Dieser Zusammenhang kommt in der Korrelation von Amplitude und Latenzzeit gut zum Ausdruck (Abb. 27).

Auch die Formen des ersten Gipfels der Einantwort und seine Flanken zeigen wellenlängenabhängige Unterschiede. Langwellige Reizlichter rufen einen buckeligen Eineffekt hervor, der den Eindruck erweckt, daß er bereits aus mehreren Phasen bestehe. Kurzwellige Reize lösen dagegen einen ganz glatten Eineffekt aus (vgl. Abb. 26c,d).

4. Physiologische Unterschiede zwischen Tag- und Nachtauge

4.1. Spektrale Empfindlichkeitsunterschiede

Die Versuche über die tagesperiodische Pigmentwanderung haben gezeigt (vgl. S. 12), daß auch im extrem dunkeladaptierten Tagauge Schirmpigmentgranula - zu einer ca. 50µm dicken Filterschicht dicht gepackt - distal vor den Rhabdomspitzen liegen, während im Nachtauge die Rhabdome dem einfallenden Licht direkt zugänglich sind. Da diese Schirmpigmentgranula im durchfallenden Licht gelb- bis rotbraun erscheinen, also eine wellenlängenabhängige Absorption zeigen, sollte sich diese Absorptionseigenschaft in einem spektralen Empfindlichkeitsunterschied zwischen Tag- und Nachtauge widerspiegeln.

Zur Untersuchung dieser Frage wurde folgende Methode angewandt: Die Versuchstiere standen bis langzeitpräparate mehr Tage im "Dunkelkabinett" unter ständiger Kontrolle ihrer Tagesperiodik. Dann wurden spektrale Wirkksamkeitskurven mit monochromatischen quantengleichen Lichtern aufgenommen; und zwar in der lichtsubjektiven Tagphase mit einem Quantenniveau von 10^{10} (vgl. Abb. 28a, Kreise) und in der darauffolgenden Nachtphase jeweils mit dem Quantenniveau, das bei 352 nm die absolut gleiche

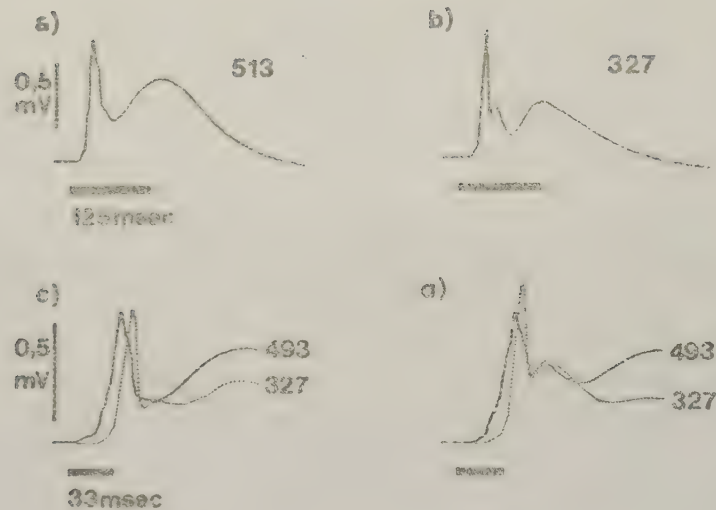


Abb. 26 Das ERG des dunkeladaptierten Nachtauges bei monochromatischen, quantengleichen Reizlichtern. Die ERG in a) und b) sind vom selben Versuchstier, ebenso wie jeweils (—) und (.....) in c) bzw. in d).

Zahlen ohne Dimensionsangabe: Wellenlänge des Reizlichtes in nm.

vertikale Balken: Amplitudeneichung.

horizontale Balken: Reizdauer (in a) und b) 125 msec; in c) und d) 33 msec).

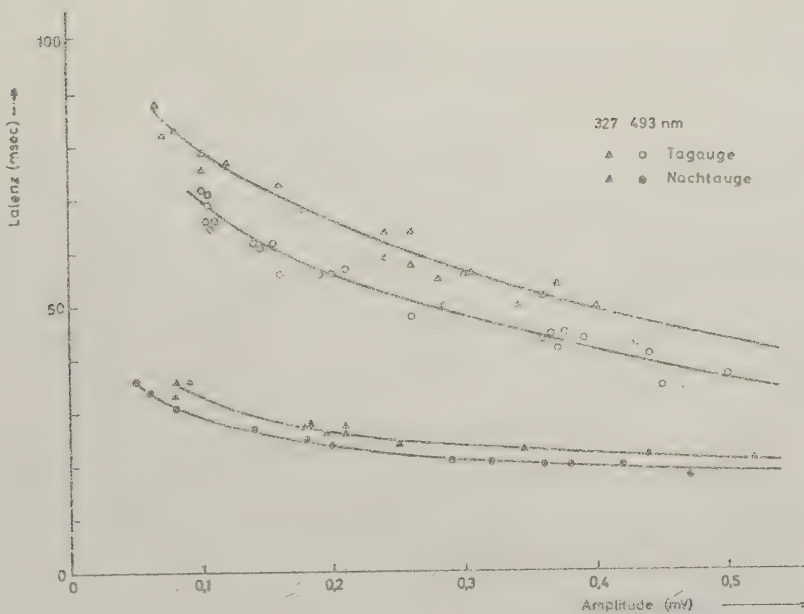


Abb. 27 Korrelation zwischen Amplitude und Latenz des Eneffektes im ERG bei verschiedenen Wellenlängen des Reizlichtes. Bei 327 nm ($\Delta \blacktriangle$) ist die Latenz länger als bei 493 nm ($\circ \bullet$). Gleiches gilt für Tag- ($\Delta \circ$) und Nachtauge ($\blacktriangle \bullet$).

Abszisse: Amplitude des ersten Eneffektgipfels in mV.
 Ordinate: Latenz in msec (Zeit nach Reizbeginn bis das ERG eine Höhe von 50 μ V erreicht hat).

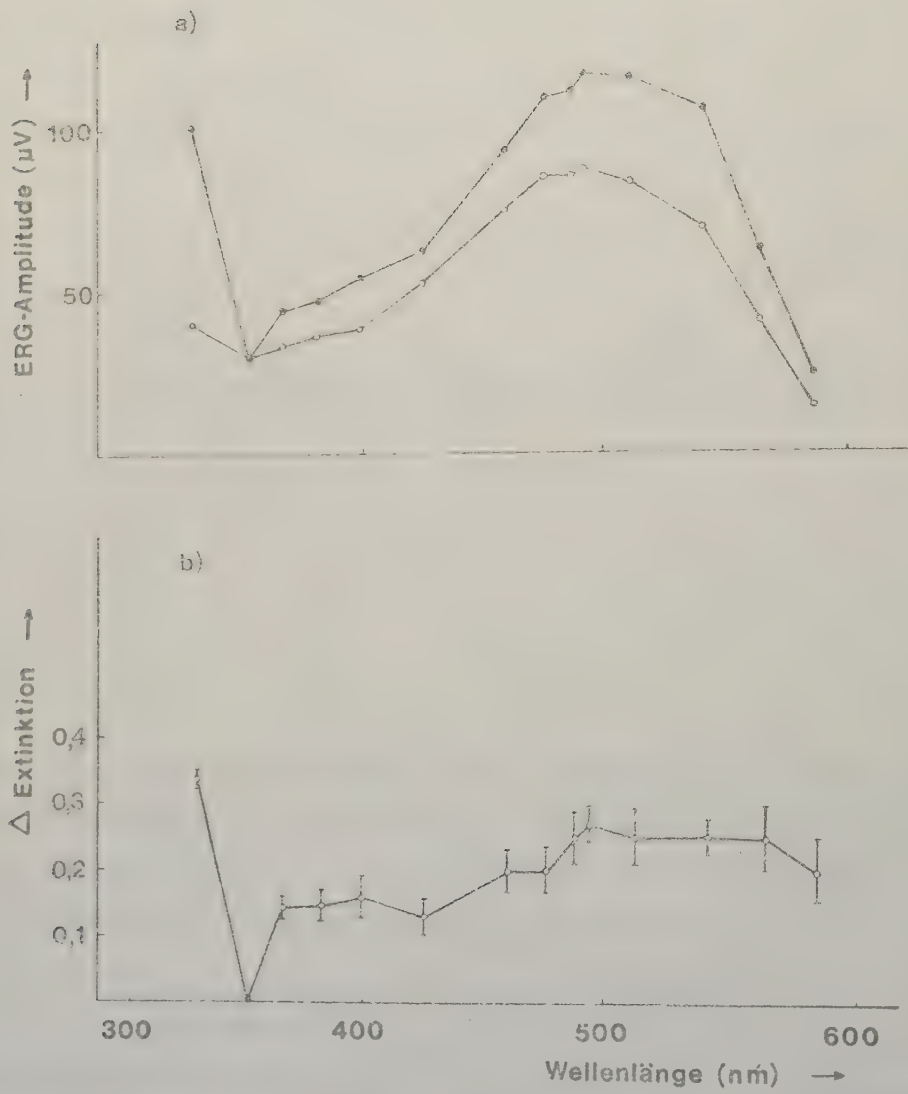


Abb. 28 (Beschreibung siehe gegenüberliegende Seite).

zu Abb. 28

a) Die spektralen Wirksamkeitskurven vom Tag- (○) und vom Nachtauge (●). Das Nachtauge wurde mit dem Quartenniveau von $I=0,05\%$ gereizt, damit die ERG-Amplitude bei 352 nm absolut gleiche Höhe erreichte wie im Tagauge bei $I=100\%$. (Beide Kurven stellen Mittelwerte von 10 Meßwerten und von zwei Tieren dar.)

b) Die Differenzwerte aus Kurven, die wie bei a) gewonnen wurden, als Extinktionswerte aufgetragen. (Aus 8 Kurvenpaaren von insgesamt drei Tieren, die Balken geben die mittleren Fehler der Mittelwerte an.)

Abszissen: Wellenlänge der Reizlichter in nm.

Ordinate a): Amplitude des ERG-Eineffektes in mV.

Ordinate b): Wirksamkeitsunterschiede in relative Extinktionswerte umgerechnet.

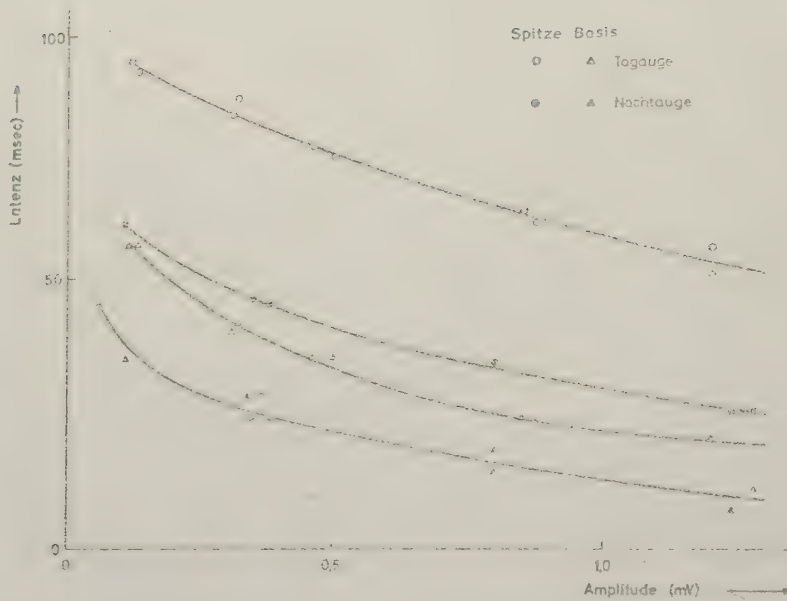


Abb. 29 Die Korrelation zwischen Amplitude und Latenz des ERG-Eineffektes in Tag- (O Δ) und Nachtauge (● ▲). Im Tagauge sind die Latenzen jeweils länger.

(O ●): Latenz der Spitze, d.h. Zeit nach Reizbeginn, zu der die Spitzenhöhe erreicht ist.

(Δ ▲): Latenz der Basis, d.h. Zeit nach Reizbeginn, bei der das ERG eine Höhe von 50 μ V erreicht hat.

Abszisse: Amplitude des ersten Eineffektgipfels im ERG in mV.

Ordinate: Latenz in msec.

ERG-Amplitude hervorrief wie das 100%-Niveau in der vorausgegangenen Tagphase (vgl. Abb.28a, Punkte).

Wenn der Wirksamkeitsunterschied der Reizlichter zwischen Tag- und Nachtauge durch einen Neutralgraufilter verursacht würde, dann müßten sich die beiden Wirksamkeitskurven decken. Anderenfalls kann aus ihrer Differenz auf die spektralen Absorptionseigenschaften des Filters geschlossen werden. Dies wurde mit Hilfe von Intensitätskennlinien, die für das Nachtauge für jede Wellenlänge einzeln aufgenommen worden waren, durchgeführt.

Die Ergebnisse aus solchen Versuchen sind in Abb.28a) und b) dargestellt. Demnach unterscheiden sich Tag- und Nachtauge deutlich. Im Nachtauge (Abb.28a, Punkte) sind die Reizlichter wellenlängenabhängig wirksamer als im Tagauge (Abb.28a, Kreise). Die Differenzkurve (Abb.28b) - bereits in relativen Extinktionswerten angegeben - zeigt ein breites Maximum zwischen ca. 490 und 580 nm, ein Minimum bei 352 nm und steigt im UV gegen 327 nm wieder an.

4.2. Unterschiede in der Latenz

Reizt man sowohl das Tag- als auch das Nachtauge unter den gleichen Bedingungen mit Lichtern verschiedener Intensität und trägt dann die Latenzen der Einantwort gegen ihre Amplitude auf, so erhält man in der Regel Kurven, wie in Abb.29. Im Tagauge ist sowohl die Latenz der Basis als auch die der Spitze des Eineffektes länger als im Nachtauge. Die Latenz der Basis ist die Zeit nach Reizbeginn, zu der das ERG die Höhe von 50 μ V erreicht, und die Latenz der Spitze ist die Latenz des ersten Eineffektgipfels (vgl. auch Abb.27).

5. Die Abhängigkeit der Erregungsformen von kurzzeitiger, schwacher Hell- und Dunkeladaptation

Kurzzeitig soll hier bedeuten, daß Adaptationsprogramme geboten wurden, in denen der Abstand zwischen Adaptations- und Testreiz im Bereich von 20 msec bis maximal 60 sec lag.

Unterschiedliche Helladaptation kann nicht nur das Testreiz-ERG fast ganz unterdrücken, sondern auch die Amplituden einzelner Phasen selektiv beeinflussen.

Im folgenden Versuch wurde ein schwacher Adaptationsreiz ungefähr eine Sekunde vor dem Testreiz gegeben. Dieser Test-

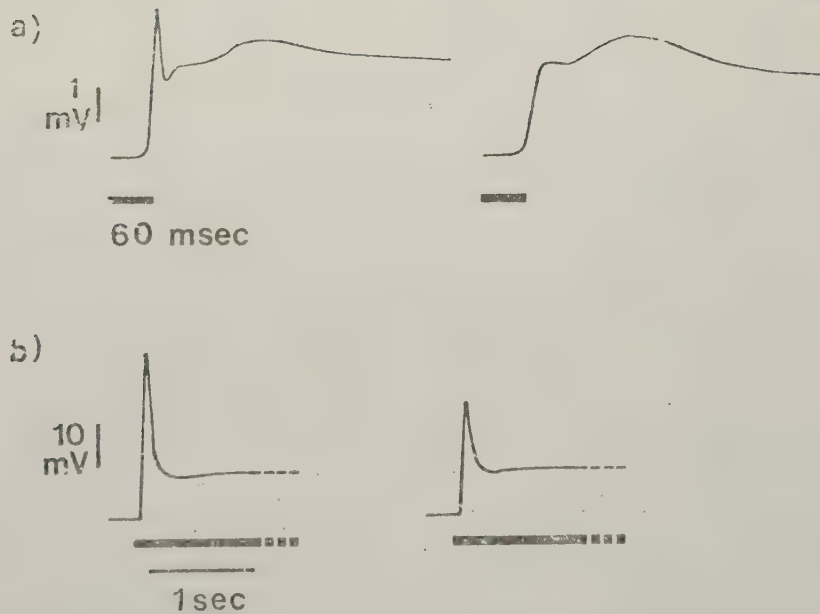


Abb. 30 Abhängigkeit des ERG-Eineffektes und der Spitzenamplitude im Generatorpotential von der Helladaptation.

a) Selektive Helladaptation des ersten Eineffektgipfels im ERG. (DC-Ableitung mit Kapillarmikroelektroden).

links: das ERG eines dunkeladaptierten Nachtauges.
rechts: helladaptiert.

b) Selektive Helladaptation der Spitze im Generatorpotential.

links: dunkeladaptiert.
rechts: 11 Sekunden danach.

vertikale Balken: Amplitudeneichung.

horizontale Balken: Reizdauer mit Zeiteichung.

reiz allein löste im dunkeladaptierten Nachtauge ein ERG wie in Abb.30a) (links) aus. Wurde der Adaptationsreiz so kurz und schwach gewählt, daß er im Testreiz-ERG die langsame Phase nicht mehr beeinflusste, dann löschte er selektiv den ersten Eineffektgipfel aus (Abb.30a, rechts).

Dieses Versuchsergebnis läßt sich vermutlich durch einen Befund am Rezeptorpotential erklären. Die Generatorpotentiale von Einzelzellen können in Abhängigkeit von ihrem Adaptationszustand verschiedene Amplitudenverhältnisse zwischen Spitze und Plateau haben. Belichtet man ein dunkeladaptiertes Auge und wiederholt den gleichen Reiz nach wenigen Sekunden, so wird die schnelle Anfangsphase im zweiten Generatorpotential deutlich kleiner, während die Plateauhöhe sich nicht verändert. Im Beispiel der Abb.30b) ist die Spitzenamplitude im dunkeladaptierten Auge 38 mV und bei Reizwiederholung nach 11 Sekunden nur noch 26 mV hoch. In beiden Fällen jedoch beträgt die Plateauamplitude 10 mV.

Ein weiterer Versuch soll zeigen, wie die Amplitude des ersten Eineffektgipfels durch Helladaptation vergrößert werden kann. Belichtet man ein halbstündig dunkeladaptiertes Nachtauge mit gleichen Testreizen (ca. 10^3 lx) in Abständen von 5 Sekunden und verfolgt die Amplitude des ersten Eineffektgipfels, dann kann man beobachten, wie diese von einem Testreiz zum anderen zunächst zunimmt und später erst wieder etwas abnimmt. Ein Beispiel dafür ist in Abb.31 wiedergegeben. Die Amplitude des Eineffektes wächst innerhalb der ersten halben Minute auf einen Maximalwert von 163% des Ausgangswertes an. Danach stellt er sich für die weitere Versuchszeit auf etwa 125% ein. Es konnten Maximalwerte über 200% beobachtet werden.

Dieser Effekt ist von mehreren Parametern abhängig wie z.B. Länge, Intensität und Abstand der Testreize sowie vom Adaptationszustand und der Tagesphasenlage des Auges. Er kann zwar im Rahmen dieser Arbeit noch keine Erklärung finden, muß aber bei allen Versuchen, bei denen die Amplituden des ersten Eineffektgipfels ausgewertet werden, berücksichtigt werden.

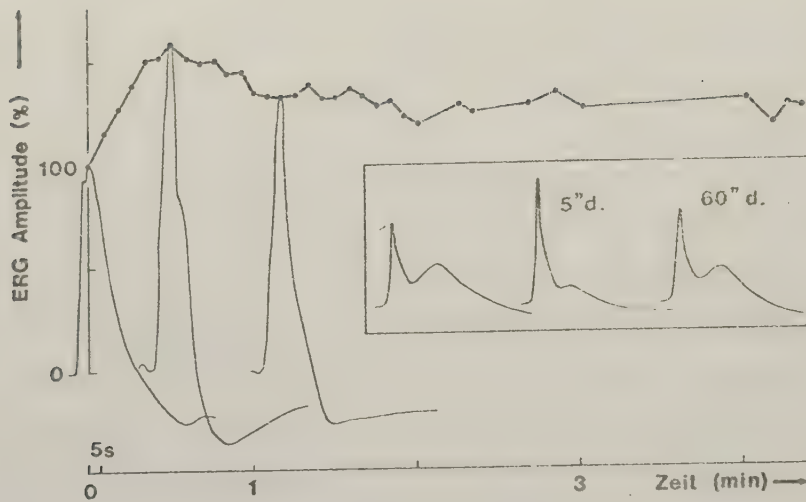


Abb. 31 Verlauf der Amplitude des ERG-Eineffektes bei einer Testreizwiederholung in Abständen von 5 Sekunden. Die umhüllende Kurve zeigt deutlich das Anwachsen der Amplitude des ersten Eineffektgipfels.

Abszisse: Zeit in Minuten.

Ordinate: Amplitude des ersten Eineffektgipfels in % seiner Amplitude im dunekladaptierten Nacht-
auge.

Einschaltbild: Die Amplitude der langsamen Phase nimmt ab, während die des Eineffektes zu-
nimmt.

ERG links: vom dunkeladaptierten Auge.

ERG mitte: nach 5 Sekunden Dunkelpause.

ERG rechts: nach 60 Sekunden Dunkelpause.

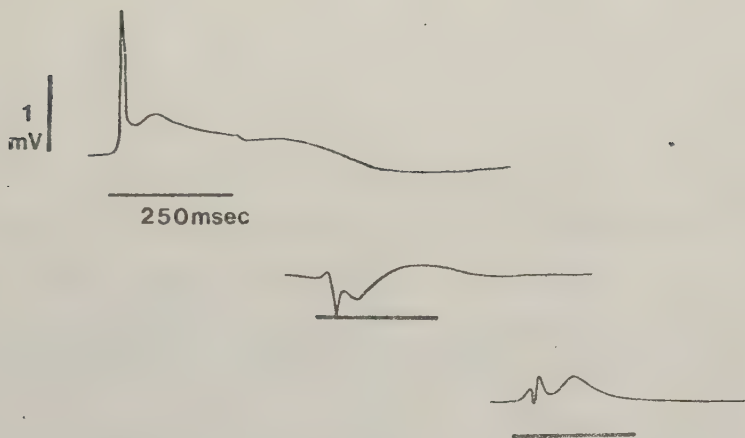


Abb. 32 Helladaptation mit Testreizen hoher Intensität
(ca. 10^5 lx).

obere Zeile : ERG eines mehrere Minuten dunkel-
adaptierten Nachtauges.

mittlere und untere Zeile: ERG, die nach jeweils
5 Sekunden Abstand folgten.

Die Potentialumkehr ist besonders bei dem zweiten
ausgeprägt.

vertikaler Balken: Amplitudeneichung.

horizontaler Balken: Reizdauer.

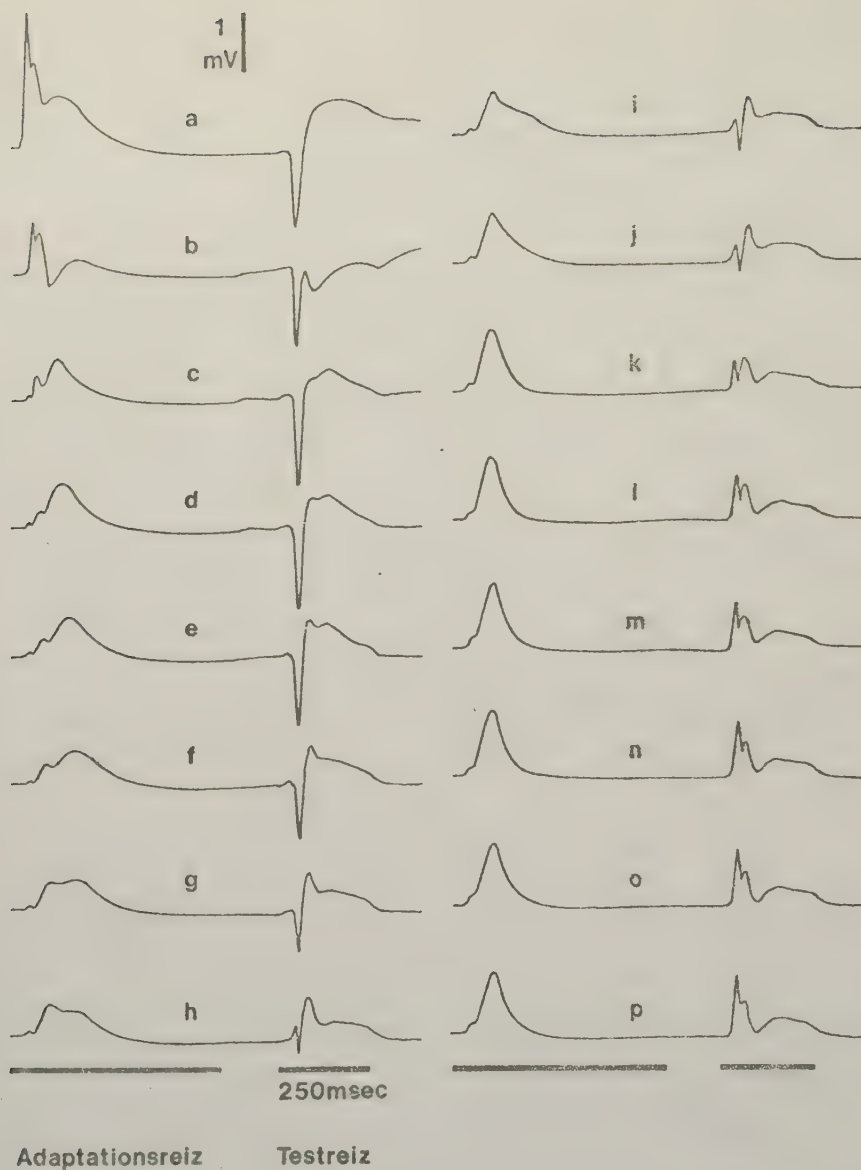


Abb. 33 Starke Helladaptation: Die Versuchssituation gleicht der in Abb.32, jedoch wurde jedem Testreiz ($I=10^5$ lx) ein Adaptationsreiz ($I=10^3$ lx) vorausgeschickt. Die Kombination aus Adaptations- und Testreiz wurde alle 5 Sekunden wiederholt (a bis p).

vertikaler Balken: Amplitudeneichung.

horizontale Balken: Reizdauer.

6. Versuche zur Deutung der ERG-Form

6.1. Starke Helladaptation

Starke Helladaptation bedeutet im folgenden, daß Adaptationsreize hoher Intensitäten (10^3 bis 10^5 lx) in kurzen Anständen (150 msec bis 5 sec) vor dem Testreiz gegeben worden sind.

Starke Helladaptation kann im darauffolgenden Testreiz-ERG, das im dunkeladaptierten Auge nur corneanegative Phasen enthält, corneapositive Ausschläge verursachen (Abb.32). Das scheint jedoch dem Befund zu widersprechen, daß mit Einzelzelleableitungen in der Medianaugenretina der Skorpione keine mit Licht hyperpolarisierbaren Sehzellen, wie sie z.B. in der Retina von Mollusken vorkommen (REYNOLDS and GORMAN, 1970; et al.), gefunden werden konnten. Die bisher untersuchten Retinulazellen der Skorpione wurden durch Lichtreize stets depolarisiert. Es mußte also nach einer Deutungsmöglichkeit gesucht werden, mit der man trotz der Zusammensetzung der Retina aus relativ gleichartigen Sehzellen die Umpolungen in den ERG erklären kann. Zu diesem Zweck wurden die folgenden Helladaptationsversuche durchgeführt:

An Langzeitpräparaten wurden die Augen mit einer Intensität von ca. 10^5 lx beleuchtet. In Abb.32 ist zuoberst das ERG des dunkeladaptierten Nachtauges bei einem solchen Lichtreiz zu sehen. Es folgten dann in je 5 Sekunden Abstand und bei gleicher Reizintensität das zweite und das dritte ERG. Das zweite ERG ist fast spiegelbildlich zum ersten. Im dritten erscheinen die einzelnen Phasen schon teilweise wieder mit normalem Vorzeichen. Dieser Vorgang ist reproduzierbar. Verstärkt man die Helladaptation weiter, indem man z.B. dem Testreiz jeweils einen ca. 600 msec langen Adaptationsreiz ($I=5 \cdot 10^3$ lx) dicht vorausschickt, so erhält man die ERG in Abb.33. Auch bei dieser Reizfolge fällt das helladaptierte Testreiz-ERG (Abb.33a) durch positive Phasen auf. Im einzelnen sind folgende Veränderungen zu bemerken:

1) Testreiz-ERG: Mit größerer Latenz als der Dunkelreiz im dunkeladaptierten Auge (vgl. Abb.32, oben) beginnt in Abb.33a) eine große positive Welle, die möglicherweise aus der umgepolten Einzelzelle resultiert. Die Latenzzeit scheint dagegen fast unverändert. In den darauffolgenden Testreiz-ERG tritt

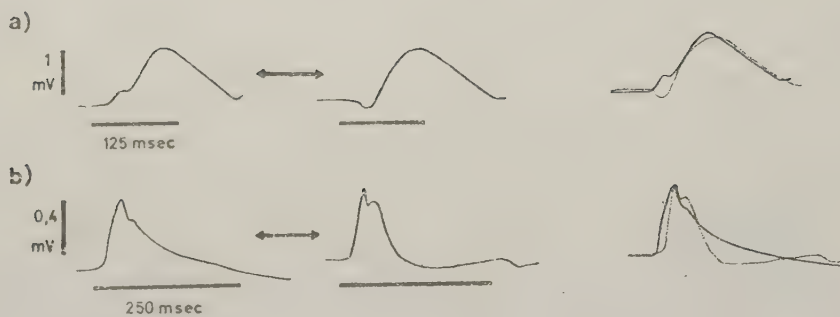


Abb. 34 Abhängigkeit der ERG-Form vom Einfallswinkel des Lichtes. Die Lichtquelle wurde in a) um 20° und in b) um ca. 60° geschwenkt.

a) Kapillarelektroden, DC-Verstärkung.

b) Platinelektroden, AC-Verstärkung.

rechts: ERG von "links" und "mitte" übereinander gezeichnet.

vertikale Balken: Amplitudeneichung.

horizontale Balken: Reizdauer.

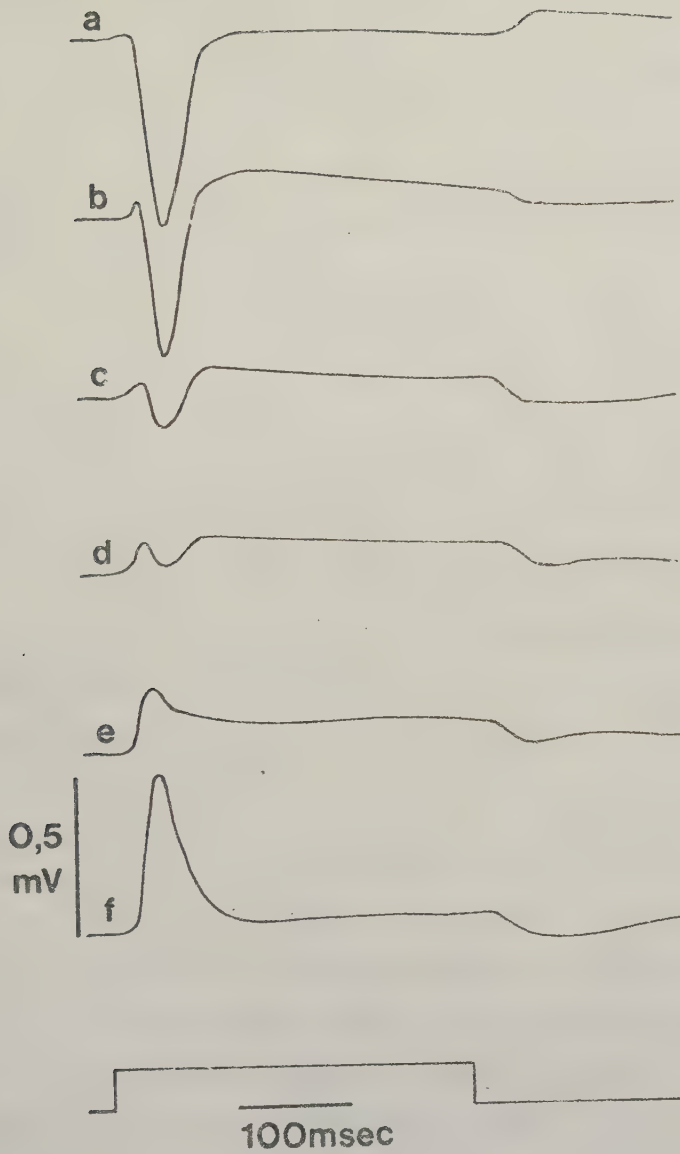


Abb. 35 ERG aus verschiedener Retinatiefe. Die Glaskapillarelektrode (Spitzendurchmesser unter $50\text{ }\mu\text{m}$) wurde von dorsal (a) in die Retina hineinbewegt. DC-Ableitung, Tagauge.

unterste Spur: Reizschreibung.

vertikaler Balken: Amplitudeneichung.

horizontaler Balken: Zeiteichung.

ferenzieren sich die einzelnen Phasen und ändern sukzessive ihr Vorzeichen, bis sie schließlich in p) wieder ein "normal" gepoltes ERG mit den bekannten Phasen bilden.

2) Adaptationsreiz-ERG: Dieses adaptiert selbst zu einer dem Tagaugen-ERG ähnlichen Form, die nur noch einen einfachen Eineffekt mit der kleinen Vorwelle enthält. Von e) ab wächst der erste Gipfel des Eineffektes an. Ihm genau gegenüber verschwindet der zweite Gipfel. Im Testreiz-ERG wächst gleichzeitig die positive Spitze langsam zum ersten Gipfel des Eineffektes aus.

Die Formen des Adaptationsreiz- und des Testreiz-ERG in Abb.33 p) sehen trotz der unfähr gleichen Amplitude des ersten Eineffektgipfels sehr verschieden aus.

6.2. "Flächeneffekte"

Wie in der Diskussion noch ausgeführt wird, hängen solche Umpolungseffekte möglicherweise mit der flächenhaften Ausdehnung der Retina zusammen. Es könnten lokale elektrische Potentialdifferenzen in der Retina in Abhängigkeit von ihrer Lage zu den Ableitelektroden mit unterschiedlichen Vorzeichen abgegriffen werden. Tatsächlich ließen sich in der Medianaugenretina der Skorpione mit Lichtreizen unterschiedlicher Einfallswinkel bei sonst aber unveränderten Bedingungen formverschiedene ERG auslösen. Abb.34 zeigt zwei Beispiele dafür. Im oberen wurde die Lichtquelle um 20° geschwenkt, im unteren um ca. 60° . Die Veränderungen sind vollkommen reversibel, sie bestehen aus Verzerrungen und teilweiser Vorzeichenumkehrung.

6.3. Ableitung des ERG aus verschiedener Retinatiefe mit einer ringergefüllten Glaskapillarelektrode (Spitzendurchmesser unter $50\text{ }\mu\text{m}$) wurde die Retina von dorsal nach ventral sukzessive durchstoßen. Eine gleichartige Bezugselektrode lag dabei im Linsenkörper desselben Medianauges. In Abb. 35 sind die ERG-Formen des Tagauges zusammengefaßt, die bei verschiedener Elektrodentiefe abgeleitet worden sind. Bei a) liegt die bewegliche Elektrode noch außerhalb der Retina, es wird ein "normales" Tagaugen-ERG registriert. Beim schrittweisen Vordringen dieser Elektrode beobachtet man zunächst ein Umpolen allein des Plateaus (Abb.35b),

während die Einantwort mit etwa unveränderter Amplitude und Polarität bestehen bleibt. Erst beim weiteren Vordringen der Elektrode nimmt die Höhe der Einantwort ab (c bis d), wechselt das Vorzeichen (e) und erreicht schließlich (f) die gleiche Amplitude wie in a). Das gesamte ERG gleicht in seiner Form vollkommen dem in a), nur ist jetzt das Vorzeichen umgekehrt.

Bemerkenswert ist vor allem, daß die beiden Phasen, Einantwort und Plateau, nicht an derselben Stelle in der Retina ihr Vorzeichen umkehren.

D. DISKUSSION

I. Pigmentzellen

Der Bau und die funktionelle Bedeutung der Pigmentzellen in der Retina der Skorpionaugen sind nach wie vor unklar. Die blasenartigen Erweiterungen am distalen Ende der Pigmentzellen (SCHEURING, 1913), die sich vor die Sehzellen schieben sollen, bedürfen für Androctonus australis L. erst noch der elektronenmikroskopischen Bestätigung. BEDINI (1967) hat zwar eine Feinstrukturuntersuchung über die Medianaugen von Euscorpius carpathicus veröffentlicht. Sie beschreibt darin eine Schicht von Pigmentzellen, die distal vor den Retinulazellen liegt. Leider ist ihrer Arbeit aber nicht sicher zu entnehmen, ob es sich dabei tatsächlich um eine gesonderte Pigmentzellschicht handelt. Zudem sind BEDINI'S Untersuchungen offensichtlich nur an Tagaugen gemacht worden, da die tagesrhythmische Pigmentverschiebung im Skorpionauge noch nicht bekannt war. Im Tagauge sind aber die distalen Enden der Sehzellen so dicht mit Pigmentgranula angefüllt, daß bereits in geringfügig schrägen Schnitten abgekappte Sehzellen die von BEDINI veröffentlichten Bilder verursachen könnten. Außerdem habe ich in meinen Präparaten stets Sehzellen bis zur praeretinalen Membran durchgehend verfolgen können (vgl. Abb. 8, 14). Das Vorhandensein dieser distalen Pigmentzellschicht muß also vorerst für Androctonus in Frage gestellt werden. Zur Klärung dieses Problems wäre es nötig, Augen in verschiedenen Tagesphasen elektronenmikroskopisch zu untersuchen.

II. Schirmpigment der Retinulazellen

Die Ergebnisse dieser Arbeit führen zu folgender Hypothese über den Zusammenhang zwischen ERG-Empfindlichkeit und Pigmentwanderung:

- a) Das Schirmpigment in den Medianaugen wandert in der Tagphase innerhalb der Sehzellen in deren distale Spitzen und in der Nachtphase von da nach proximal zurück.
- b) Die Wanderung folgt einem endogen gesteuerten circadianen Rhythmus.
- c) Sie ist die Ursache für die tagesperiodische Empfindlich-

keitsänderung im ERG.

An Beweisen hierfür liegen vor:

zu a) Die Pigmentverschiebung konnte histologisch nachgewiesen werden (vgl. Abb. 12, 13, 14).

zu b) Unter konstanten Bedingungen verschieben sich die tiersubjektiven Tagesphasen ständig gegenüber dem Außentag (vgl. Abb. 5). Daraus folgt zwingend, daß die Rhythmik in diesem Fall endogen gesteuert wird (ASCHOFF, 1962). Mit Licht-Dunkel-Wechsel läßt sich die Periodik jedoch auch durch exogene Einflüsse synchronisieren. Ob dieser Helligkeitseinfluß allerdings direkt auf die Pigmentwanderung wirkt, ist noch unklar. Es wäre zwar biologisch sinnvoll, und Beobachtungen von SCHEURING (1913) und MACHAN (1968a) deuten auch auf einen solchen Zusammenhang hin. Aber diese Autoren haben nur eine Pigmentwanderung als Folge der Dunkeladaptation beschrieben und geben keine Argumente an, die ausschließen, daß es sich dabei um den Übergang zum Nachtauge gehandelt hat.

zu c) Mehrere meiner Befunde sprechen dafür, die Ursache für die tagesrhythmische Änderung der ERG-Empfindlichkeit in der Pigmentverschiebung zu sehen. Der wichtigste ist der histologische Nachweis der Pigmentverschiebung in die Tagposition an einem Auge, das tagelang dunkeladaptiert war und sich zur Zeit der histologischen Fixierung in der elektrophysiologisch nachgewiesenen Tagphase befunden hat. Die Tatsache, daß hier das Pigment trotz maximaler Dunkeladaptation in die Lage gewandert ist, in der es den Lichtfluß mit Sicherheit abschwächt (Abb. 12, 13, 14), spricht für diese Hypothese. Weitere Stützen dafür sind der Zeitverlauf der ERG-Empfindlichkeit in den Übergangsphasen, der auffallend dem von anderen Pigmentwanderungen gleicht (BERNHARD, HÖGLUND and OTTOSON, 1963; HÖGLUND, 1966), und der spektrale Empfindlichkeitsunterschied zwischen Tag- und Nachtauge (vgl. Abb. 36).

Vergleicht man die Differenzkurve aus den spektralen Wirksamkeiten in der Tag- und in der Nachtphase mit den Extinktionskurven, die LANGER (1967) für das Schirmpigment in den Calliphoraaugen gefunden hat, so stellt sich eine

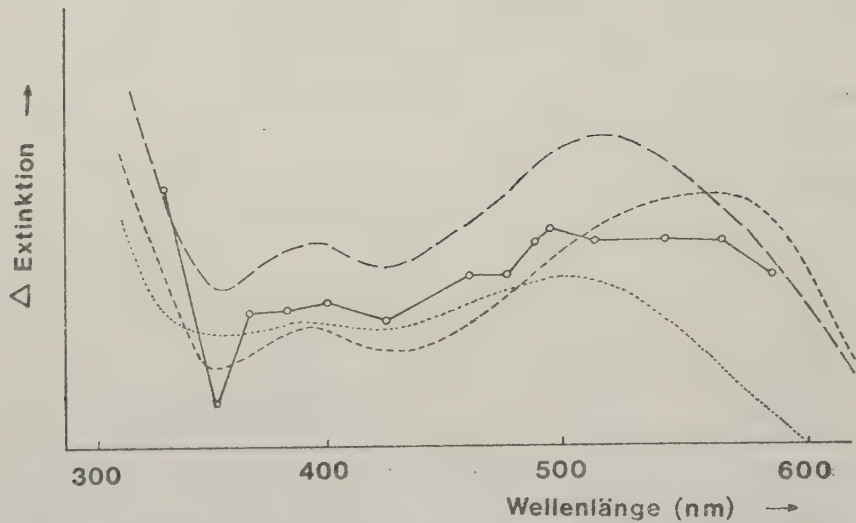


Abb. 36 Vergleich der Extinktionskurven von Schirmpigmenten aus Calliphoraaugen (LANGER, 1967) mit dem spektralen Wirksamkeitsunterschied zwischen Tag- und Nachtauge des Medianauges von Androctonus.

(—): spektraler Wirksamkeitsunterschied im ERG beim Skorpion (vgl. Abb.28 b).

(-----): rote, (---) gelblich-rote und (.....) gelbbraune Pigmentgranula der Fliege.

Abszisse: Wellenlänge der Reizlichter in nm.

Ordinate: relative Extinktion.

auffällige Ähnlichkeit heraus (Abb.36). Da es sich bei Calliphora um Ommochrome handelt, die in verschiedenen Oxidationsstufen vorliegen, darf man aufgrund dieser Ähnlichkeit vermuten, daß auch das Schirmpigment in den Skorpionaugen zur Ommochromgruppe gehört.

In Analogie zu der Pigmentwanderung im "Dauerdunkel" dürfte diese Pigmentverschiebung auch im Dauerlicht weiterlaufen. Denn auch bei Dauerlicht zeigt das ERG tagesrhythmische Schwankungen. Dies ist auch von anderen Tieren bekannt geworden. So hat z.B. WELSH (1930) bei der Garnele Macrobrachium circadiane Pigmentwanderungen bei hellem Dauerlicht beobachtet.

Welche Steuerungsmechanismen für die circadiane Pigmentwanderung bei den Skorpionaugen vorhanden sind, läßt sich noch nicht absehen. Erwähnenswert scheinen in diesem Zusammenhang die Experimente von RAO (1970). Er hat Extrakte aus dem Blut von Skorpionen gewonnen und damit an standardisierten Nervenpräparaten der gleichen Skorpionart circadian unterschiedliche Wirkungen erhalten, die der jeweiligen Tagesphase des Spendertieres entsprachen. Dies ist zumindest ein erster Hinweis darauf, daß auch für die retinale Tagesperiodik beim Skorpion eine hormonale Steuerung in Frage kommen könnte. Deafferentierungsversuche am Augennerv, kombiniert mit kontralateralen Reizprogrammen könnten hier relativ leicht die Entscheidung zwischen humoraler und neuronaler These ermöglichen.

III. Tagesrhythmik

Der Begriff Empfindlichkeitsänderung bezieht sich hier immer auf das Elektroretinogramm und heißt, daß zum Erreichen einer konstanten ERG-Antwort unterschiedliche Reizintensitäten benötigt werden. Dies bedeutet nicht gleichzeitig, daß auch die Sehzellen einer entsprechenden Empfindlichkeitsänderung unterliegen. Es ist durchaus möglich, daß die Retinulazellen im Laufe von 24 Stunden ihre Empfindlichkeit nicht verändern, während der Pigmentfilter allein die circadianen Schwankungen verursacht. HÖGLUND (1966) hat dies mit überzeugenden

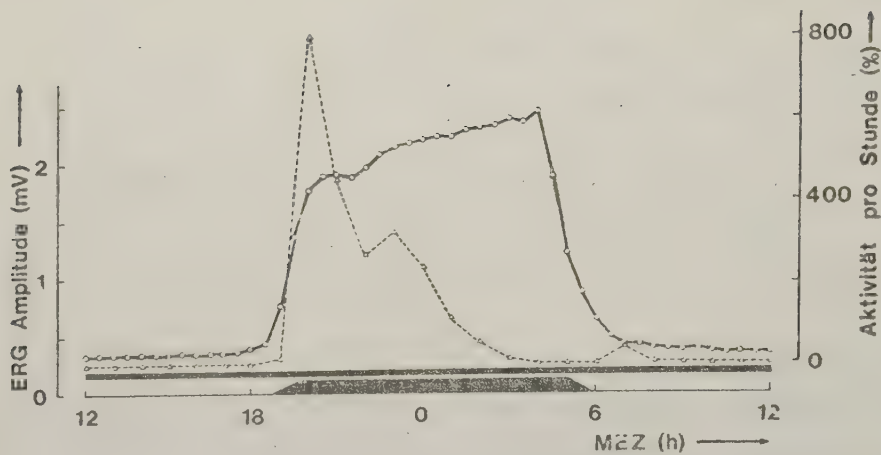


Abb. 37 Vergleich des Tagesverlaufs der spontanen Laufaktivität von Euscorpius carpathicus und der ERG-Amplitude von Androctonus australis L.

(Δ --- Δ): Spontanaktivität von Euscorpius im Naturtag
(Δ): (WUTTKE, 1966).

(O—O): ERG-Amplituden von Androctonus im "Dauerdunkel".

Abszisse: Tageszeit in Stunden.

Ordinate rechts: Laufaktivität pro Stunde in %.

Ordinate links: Amplitude des ersten Eineffektgipfels
im ERG in mV.

horizontale schwarze Balken: Dauer der Dunkelheit.

oben: "Dauerdunkel" bei Androctonus.

unten: Naturtag bei Euscorpius.

Versuchen z.B. für verschiedene Motten (Sphingidae) nachgewiesen. Es ist ihm gelungen, unter Umgehung des Schirmpigments Sehzellen innerhalb der Retina direkt zu belichten. Dabei stellte sich heraus, daß die Empfindlichkeit der Sehzellen konstant bleibt, während der Lichtfluß in das Auge durch das distale Schirmpigment so kontrolliert wird, daß im ERG Empfindlichkeitsunterschiede um einen Faktor 1000 gemessen werden können.

Allerdings muß auch erwähnt werden, daß JAHN und WULFF (1941) für Dytiscus eine circadiane Empfindlichkeitsänderung in derselben Größenordnung beschrieben haben, der aber keine Pigmentverschiebung parallel geht. Die Autoren machen noch unbekannte Veränderungen in der Retina für den Empfindlichkeitsunterschied verantwortlich.

Der Tagesverlauf der Empfindlichkeitsschwankung entspricht den Ergebnissen, die an den wenigen anderen bisher untersuchten Tieren gefunden worden sind. Obwohl bereits recht früh durch die Arbeiten von JAHN und CRESCITELLI (1940) tagesperiodische Empfindlichkeitsschwankungen, z.B. in den Augen von Käfern, nachgewiesen worden sind, scheinen bisher ARECHIGA und WIERSMA (1969) die einzigen zu sein, die den gesamten Tagesverlauf der ERG-Empfindlichkeit bei Arthropoden aufgenommen haben. Sie geben für den Krebs Procambarus einen ähnlichen Tagesverlauf der Empfindlichkeit an, wie ich ihn bei Androctonus gefunden habe. Beim Krebs steigt die Empfindlichkeit schon in der "Tagphase" bereits mehrere Stunden vor der - auch scharfen - Übergangsflanke zum "Nachtauge" allmählich an. In der "Nachtphase" dagegen wird ein konstantes Plateau eingehalten. Auch der Tagesverlauf der Pupillengröße im Mehlkäferauge (WADA und SCHNEIDER, 1968) zeigt einen ähnlichen monophasischen Zeitgang wie die ERG-Empfindlichkeit der Skorpione.

Der Vergleich des circadianen Aktivitätsverlaufs - allerdings bei einer anderen Skorpionart - mit dem ERG-Tagesverlauf zeigt interessante Aspekte. In Abb. 37 ist die Amplitudenkurve aus der Abb. 4 mit einer typischen Aktivitätskurve von Euscorpius carpathicus (WUTTKE, 1966) mit gleichem

Zeitmaßstab übereinander gezeichnet. Beide Kurven erreichen beim Übergang von Tag- zu Nachtphase nahezu gleich schnell ihren ersten nächtlichen Höhepunkt, dann aber sinkt die Aktivitätskurve sehr rasch mit nur kurzer Unterbrechung durch ein kleines Zwischenmaximum auf den für die Tagphase charakteristischen Nullwert ab. Mehr oder weniger regelmäßig folgt auf die Nachtphase ein kleiner Aktivitätsgipfel in den ersten Morgenstunden. Dieser unterschiedliche Tagesverlauf von motorischer Spontanaktivität und Sehempfindlichkeit zeigt eine schöne biologische Anpassung an die Umweltbedingungen des Skorpions. Denn die Aktivitätsverteilung dürfte wohl in erster Linie auf den Nahrungserwerb abgestimmt sein und kann sich deshalb für das nachtaktive Tier auf eine erste "intensive Suchphase" beschränken. Die Empfindlichkeit der Augen dagegen ist sinnvollerweise für die gesamte Dauer der Dunkelheit maximal erhöht und gestattet damit während der ganzen Nacht gleich gutes Sehen. Tagsüber ist es für den Organismus vorteilhaft, die Augen mit ihrer hohen Lichtempfindlichkeit gegen Blendung zu schützen.

Die bisherigen Befunde über die Tagesperiodik der Skorpione - gemessen an ihrer lokomotorischen Aktivität (CLOUDSLEY-THOMPSON, 1956; WUTTKE, 1966) - weisen diese Tiere als typisch nachaktiv aus. Auf verschiedene Lichtbedingungen reagieren sie genau der ASCHOFFschen Regel entsprechend (ASCHOFF, 1962), d.h. ihre circadiane Periodenlänge vergrößert sich im Dauerlicht und wird im Dauerdunkel kürzer, meist kürzer als 24 Stunden. Verglichen damit überraschen die hier gefundenen Ergebnisse über die circadianen Veränderungen im Skorpion-ERG. Denn die Periodenlängen liegen auch bei "Dauerdunkel" im Mittel über 24,4 Stunden, während z.B. die von WUTTKE untersuchten - freibeweglichen - Tiere bei Dauerdunkel ihre Periode auf 23 Stunden verkürzen. Es liegt nahe, eine Erklärung in den unterschiedlichen Versuchsbedingungen zu suchen. Die wahrscheinlich wichtigsten Eingriffe bei meinen Experimenten sind: die Behinderung der normalen lokomotorischen Aktivität durch Festkleben der Tiere und die über die gesamte Versuchszeit hinweg regelmäßig wiederholte Belichtung mit kurzen Testreizen. Sie führen zu zwei Hypothesen:

- 1) Die Periodenverlängerung ist auf einen Stau lokomotorischer Aktivität zurückzuführen.
- 2) Die Testreize können insgesamt den physiologischen Wert einer Dauerbelichtung haben und damit die Periodenverlängerung bewirken.

Für die erste Hypothese ist es interessant, daß motorische Spontanaktivität als ein Instinkt (ASCHOFF, 1962) aufgefaßt ist. Denn danach muß auch damit gerechnet werden, daß ein Aufstauen dieser Aktivität zu entsprechenden Rückwirkungen auf andere Funktionskreise im Organismus führen kann, wie das allgemein von Triebhandlungen bekannt ist. Zur Beurteilung dieser Frage sind aber noch Experimente mit kombinierter Registrierung von ERG und Spontanaktivität notwendig.

Mit der zweiten Hypothese lassen sich die Ergebnisse der Umschaltversuche von Dauerlicht auf "Dauerdunkel" besser deuten. Dabei tritt direkt mit Beginn der "Dunkelheit" eine Periodenverkürzung auf, die aber nur 3 bis 4 Tage anhält und dann trotz fortdauernder "Dunkelheit" in eine deutliche Periodenverlängerung übergeht. Die plötzliche Verdunkelung wirkt zunächst der ASCHOFFschen Regel gemäß, so daß sie trotz des möglichen Effektes der Testlichtreize mindestens eine relative Verdunkelung bedeutet. Im Laufe der nun folgenden Dunkeladaptation muß die Wirkung der Testlichtreize aber immer stärker werden. Diese könnten somit wie eine Dauerbelichtung wirken und damit die Periodenlänge wieder vergrößern. Man darf annehmen, daß es möglich sein wird, mit Versuchen, in denen entsprechende Lichtprogramme geboten werden, diese zweite Hypothese auf ihre Gültigkeit genau zu prüfen.

IV. Lichtinduzierte Erregungen in einzelnen Retinulazellen

Die aus den Retinulazellen der Medianaugen von Skorpionen abgeleiteten belichtungsabhängigen Generatorpotentiale fügen sich dem bisherigen Bild von den Erregungseigenschaften der Arthropodensehzellen zwanglos ein. Die Zusammensetzung aus einer schnellen Anfangsphase (transient component) und einem für die Dauer des Reizes anhaltenden Plateau (steady-

state component) sowie einem langsamen Zurückkehren zum Membranruhepotential nach einem intensiven Lichtreiz sind typisch für die Reaktionen dieser Sehzellen, wie sie schon von BURKHARDT und AUTRUM (1960) und von WASHIZU (1964) beschrieben worden sind.

Schon bald nach den ersten genaueren Analysen des Belichtungspotentials einzelner Sehzellen von Limulus (HARTLINE et al., 1952) mehrten sich die Anzeichen dafür, daß dieses Generatorpotential aus zwei voneinander unabhängigen Prozessen aufgebaut wird. YEANDLE (1957) fand das unterschiedliche Verhalten der "transient component" und der "steady-state component" gegenüber Calciumentzug und Änderung der Kaliumkonzentration. NAKA (1961) und NAKA und KISHIDA (1966) beschrieben das unterschiedliche Adaptieren der beiden Komponenten. Einen der eindrucksvollsten Belege haben schließlich BENOLKEN und RUSSEL (1966) veröffentlicht. Sie zeigten, wie durch das sehr spezifisch die Na^+ -Permeabilität beeinflussende Tetrodotoxin die schnelle Anfangsphase selektiv blockiert werden kann, während das Plateau davon vollkommen unberührt bleibt.

Die am Skorpionauge gefundenen Ergebnisse lassen vermuten, daß auch hier die Sehzellen über die gleichen oder zumindest über ähnliche Mechanismen verfügen. Im Generatorpotential zeigt die Anfangsphase wie in anderen Arthropodenaugen (NAKA, 1961; NAKA and KISHIDA, 1966) eine stärkere Helladaptation als das Plateau (vgl. Abb.3ob). Das gleiche Verhalten spiegelt sich im ERG des Nachtauges wider. Die Einantwort läßt sich durch einen vorhergehenden Lichtreiz spezifisch adaptieren (vgl. Abb.3oa), ohne daß die anderen Phasen davon betroffen werden. Die Suche nach den Prozessen, die den beiden Komponenten des Generatorpotentials zugrunde liegen, hat zu den alternativen Vorstellungen geführt, daß die photochemischen Sehprozesse entweder über einen Weg auf elektrische Generatorsystem in der Sehzelle wirken, von dem aus eine "feed-back"-Kontrolle auf den Eingang zurückgeht (RUSHTON, 1965), oder daß das elektrische System bereits über zwei Wege versorgt wird, nämlich über die beiden

Komponenten im Generatorpotential (BENOLKEN and RUSSEL, 1966). Die letztere Hypothese stützt sich auf Experimente mit Tetrodotoxin. In diesem Zusammenhang sind die Versuche am Skorpionauge interessant, bei denen aus verschiedener Retinatiefe abgeleitet worden ist (Abb.35). Dabei hat sich nämlich herausgestellt, daß der Eineffekt und das Plateau im Tagaugen-ERG sich so verhalten, als entstammten sie zwei Komponenten, die z.B. an verschiedene Membranareale gebunden sind. Sollte sich die letztere Annahme bestätigen lassen, so könnte dieses Ergebnis als Stütze für das Modell von BENOLKEN und RUSSEL gewertet werden.

Die aus der Retina intrazellulär abgeleiteten Alles-oder-Nichts-Potentiale stammen sehr wahrscheinlich aus dem Axon der jeweils getroffenen Sehzelle. Dafür spricht 1) die Beobachtung, daß die Impulse nur solange abgeleitet werden konnten, wie die Elektroden spitze in einer Sehzelle lag; 2) die Form und Polarität der Impulse; 3) das zeitliche Muster der reziproken Impulsabstände, das der Form des Generatorpotentials genau entspricht. Entweder können diese Nervenimpulse von ihrem Entstehungsort im Axon antidrom in das Zellsoma aufsteigen oder elektrotonisch sich zur Elektroden spitze ausbreiten.

Aufgrund der mitgeteilten Ergebnisse ist es sehr wahrscheinlich, daß die Erregungsleitung von der Retina zum Oberschlundganglion mit Nervenimpulsen geschieht, die im proximalen Teil der Retinulazellen entstehen und sich über deren Axone durch den Nervus opticus fortpflanzen. Über eine laterale Interaktion der Sehzellen noch vor den ersten Verschaltungen im Protocerebrum kann für das Medianauge der Skorpione noch nichts gesagt werden. Bisher haben sich weder aus morphologischen (BEDINI, 1967) noch aus physiologischen Untersuchungen Hinweise darauf ergeben.

V. Das Elektroretinogramm der Medianaugen

Das ERG der dunkeladaptierten Medianaugen sieht bei niedrigen Reizintensitäten in der Tag- und in der Nachtphase fast genauso aus wie das Generatorpotential der Sehzellen:

Der Eineffekt im ERG entspricht als einzige Phase in Zeitverlauf und Adaptationsverhalten der Spitze im Generatorpotential.

Das Plateau im ERG spiegelt offenbar die Plateaus der Generatorpotentiale wider. Daß es mit verschieden hoher Amplitude abgeleitet wird, liegt wahrscheinlich an den Eigenschaften des gesamten Übertragungssystems.

Der positive Auseffekt läßt sich direkt als eine mathematische Differenzierung vom Erregungsabfall des Plateaus nach Reizende deuten. Er kann bei DC-Ableitbedingungen nicht beobachtet werden.

Sowohl der zweite Eineffektgipfel als auch die langsame Phase können noch nicht endgültig gedeutet werden, weil noch keine Entsprechung im Generatorpotential gefunden worden ist.

In welchem Umfang aufsummierte Alles-oder-Nichts-Potentiale im ERG als eigene Phase sichtbar werden, muß erst noch geprüft werden. Ebenso läßt sich ein photochemischer Effekt vom Schirmpigment in den Seh- und Pigmentzellen sowie in der Postretina zur Zeit noch nicht abschätzen. Ein derartiger Effekt ist möglicherweise an der langsamen Phase beteiligt.

Da die tagesrhythmischen Veränderungen in den Skorpion-
augen bisher nicht bekannt waren, findet man in der Literatur auch keine genauen Angaben, aus welchen Tagesphasen die ERG-Ableitungen der anderen Autoren stammen (s. Literaturhinweise in der Einleitung). Vergleiche mit diesen Befunden müssen daher vorerst Vermutungen bleiben. Unterschiede in den Ergebnissen können z.T. darauf beruhen, daß sich die Versuchstiere in verschiedenen Tagesphasen befanden. So sind offenbar die Untersuchungen MACHANS (1967, 1968a,b) zum größten Teil, die von YINON (1969) ausschließlich an Tagaugen und die von CARRICABURU und Mitarbeitern (1967 bis 1970) wahrscheinlich an Tag- und Nachttaugen gemacht worden. Die Angaben von MACHAN (1968a) über das ERG kann ich weitgehend bestätigen. Als Ergebnis

seines 16 Stunden Dunkeladaptationsversuches beschreibt er eine ERG-Form, die genau den hier gefundenen Nachtaugen-ERG entspricht. Zur Ergänzung muß aber erwähnt werden, daß sich diese ERG-Form während der gesamten Nachtphase ableiten läßt, auch schon nach Dunkeladaptationszeiten von mehreren Minuten. Im Tagauge dagegen konnte ich sie auch bei 8 Stunden ^anger Dunkeladaptation nicht beobachten. Die ERG-Bilder, die CARRICABURU und CHERRAK (1968a) veröffentlichten, lassen sich indessen noch nicht so leicht einordnen wie die von MACHAN. Entsprechendes gilt auch für die von diesen Autoren vorgeschlagene Phasenanalyse des ERG. Jedoch können diese Abweichungen von meinen Befunden verschiedene Ursachen haben. Zum Beispiel standen mir keine so frisch gefangenen Tiere zur Verfügung wie CARRICABURU und Mitarbeitern. Andererseits haben diese Autoren mit Tieren gearbeitet, die mit Flaxedil gelähmt waren.

VI. "Flächeneffekte" im ERG

Nach intensiver Helladaptation zeigen die ERG komplizierte Potentialumkehrungen (vgl. Abb.32,33). Bei der Deutung dieser Beobachtung muß man berücksichtigen, daß die Intensitätsverteilung eines Lichtreizes über der Retina nicht gleichmäßig ist; mehr oder weniger radiärsymmetrisch fällt die Lichtintensität vom Zentrum zur Peripherie hin ab. Dem entsprechend werden die Rezeptorzellen wahrscheinlich unterschiedlich stark erregt und damit auch ungleich - und zwar vom Zentrum nach außen abnehmend - helladaptiert. Somit trifft der Folgereiz während der abklingenden Helladaptation auf eine Retina, deren Sehzellen ihrer Lage entsprechend verschieden empfindlich sind. Das wiederum würde dazu führen, daß die Rezeptorerregungen, die jetzt das Testreiz-ERG aufbauen, einen anderen Lagebezug zu den ableitenden Elektroden haben als die, die das Adaptations-ERG bilden. Der Effekt wäre demnach so, als ob eine andere Retinafläche belichtet würde. Dadurch würden andere Widerstandsverhältnisse zwischen Elektroden und Spannungsquelle wirksam.

Aus der Elektrotechnik ist geläufig, daß Form und Polarität, mit der ein elektrisches Signal aufgezeichnet werden kann, von den elektrischen Eigenschaften der Leiterkreise, die zwischen der Spannungsquelle und dem Eingang zum Meßinstrument wirksam sind, entscheidend abhängt. Tatsächlich können auch, wie Abb.34 zeigt, derartige Unterschiede festgestellt werden, wenn an einer Reizsituation nichts anderes als der Einfallswinkel des Lichtes, d.h. die belichtete Retinafläche geändert wird. Aufgrund dieser Überlegungen wäre es also möglich, die komplizierten Potentialumkehrungen (vgl. Abb.32,33) allein durch solche Flächeneffekte zu erklären.

Mit dieser "Flächenhypothese" läßt sich z.B. die schrittweise Umwandlung eines "umgepolten" ERG in ein "normales", so wie in Abb.33 von a) bis p) im Testreiz-ERG dargestellt ist, leicht erklären. Danach würde sich die ungleiche Adaptationsverteilung in der Retina (vgl. Abb. 33a) zunehmend wieder ausgleichen, bis sich bei l) bereits ein Zustand mittlerer, über die Retinafläche gleichmäßiger Erregbarkeit eingestellt hat. Dieser Vorgang läuft im genannten Beispiel innerhalb von ca. 55 Sekunden ab, einer Zeitspanne also, die zu kurz ist, als daß Pigmentverschiebungen eine nennenswerte Rolle als Lichtfilter spielen könnten.

Anhand solcher Vorstellungen darf aus den obigen Experimenten und Überlegungen gefolgert werden, daß für die Diskussion des polyphasischen Skorpion-ERG die Möglichkeit derartiger Flächeneffekte berücksichtigt werden muß.

Als weitere Arbeitshypothese sei aufgrund dieser Ergebnisse zusammenfassend formuliert: Das ERG der Medianaugen des Skorpions besteht aus der Summe gleichartiger Generatorpotentiale der Sehzellen, die zeitlich und räumlich zu einem polyphasischen ERG interferieren.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Medianaugen des nordafrikanischen Dickschwanzskorpions Androctonus australis L. wurden morphologisch und elektrophysiologisch untersucht.
2. Die Amplitude des ERG zeigt unter konstanten Dunkelbedingungen gegenüber gleichen Lichtblitzen circadiane Schwankungen. Dabei bleibt sie für die Zeit, die der Tagphase entspricht, klein und steigt in der übrigen Zeit auf den bis zu zehnfachen Wert an. Dies entspricht einem Empfindlichkeitsunterschied von etwa 4 log Einheiten. Die beiden Zustände wurden ihrer Entsprechung zu den Tagesphasen gemäß als physiologisches Tagauge und physiologisches Nachtauge voneinander unterschieden.
3. In der Nachtphase wandert das Schirmpigment der Sehzellen in den Mittelbereich und in die proximalen Hälften der Zellen. Die Rhabdome werden so in nahezu voller Länge dem Licht zugänglich. In der Tagphase dagegen wird das Pigment in die distalen Spitzen der Sehzellen verlagert und schirmt dadurch die Rhabdome stark gegen Licht ab.
4. Diese Pigmentverschiebung folgt einem circadianen Rhythmus, der auch unter konstanten Bedingungen über Monate hin beobachtet werden konnte. Da hierbei die Periodenlänge von 24 Stunden abweicht - z.T. mehr als eine halbe Stunde - muß auf eine endogene Steuerung geschlossen werden. Durch Licht-Dunkel-Wechsel jedoch läßt sich die Phasenlage leicht synchronisieren.
5. Die Ergebnisse histologischer und elektrophysiologischer Untersuchungen sprechen dafür, daß diese circadianen Empfindlichkeitsschwankungen durch die Verschiebung des Schirmpigmentes in den Sehzellen verursacht werden.
6. Das Bild vom lichtmikroskopisch erkennbaren Bau der Augen entspricht weitgehend den bisherigen Beschreibungen. Jedoch konnte eine distal gelegene, geschlossene Pigmentzellschicht in der Retina nicht gefunden werden; dagegen reichen die Retinulazellen bis zur praeretinalen Membran, die Rhabdome enden meist 20 bis 30 μm davor. Die aus je

fünf Sehzellen bestehenden Retinulae bilden ein relativ regelmäßiges hexagonales Muster.

7. Das Generatorpotential der Retinulazellen zeigt den von anderen Arthropodensehzellen bekannten phasisch-tonischen Verlauf. Es konnten Belichtungspotentiale bis 50 mV registriert werden. Durch Licht verursachte Hyperpolarisationen wurden nicht beobachtet. Das Amplitudenverhältnis zwischen Spitze und Plateau verändert sich bei Helladaptation.

8. In den Sehzellen konnten auch belichtungsabhängige Alles-oder-Nichts-Potentiale registriert werden. Die reziproken Abstände dieser Impulse spiegeln den Verlauf des dazugehörigen Generatorpotentials wider. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um antidrom aus den Sezellaxonen aufgestiegene Impulse.

9. Das Elektroretinogramm gleicht sowohl in der Tag- wie in der Nachtphase bei geringen Lichtintensitäten dem Bild des Generatorpotentials. Bei höheren Intensitäten wird das ERG vor allem in der Nachtphase komplizierter.

10. Monochromatische Reizlichter verschiedener Wellenlänge verursachen ERG, die sich in Form und Latenz deutlich unterscheiden. ERG mit gleicher Amplitude des Eineffektes haben in der Tagphase in der Regel eine längere Latenz als in der Nachtphase.

11. Spektrale Empfindlichkeitsunterschiede zwischen Tag- und Nachtauge lassen vermuten, daß das Schirmpigment zu den Ommochromen gehört.

12. Mit Konditionsreizen können einzelne ERG-Phasen selektiv adaptiert und in ihrem Vorzeichen umgekehrt werden. Es wird versucht, die Polaritätsumkehrungen mit flächenbedingten Effekten zu erklären.

13. Die Ergebnisse von Adaptationsversuchen sowie ERG-Ableitungen aus verschiedenen Retinatiefen sprechen dafür, daß die Spitze und das Plateau im Generatorpotential auf räumlich getrennten Erregungsvorgängen beruhen.

F. LITERATUR

- ARECHIGA, H., and C.A.G. WIERSMA: Circadian rhythm of responsiveness in crayfish visual units. *J.Neurobiol.* 1, 71-85 (1969).
- ASCHOFF, J.: Spontane lokomotorische Aktivität. *Kükenthal, Handb.Zool.* 8, 3o.Lfg., 1-76 (1962).
- BABU, K.S.: Anatomy of the central nervous system of Arachnids. *Zool.Jb.Anat.Ont.* 82, 1-154 (1965).
- BEDINI, C.: The fine structure of the eyes of *Euscorpium carpathicus* L. (Arachnida, Scorpiones). *Arch.Ital. Biol.* 105, 361-378 (1967).
- BENOLKEN, R.M., and C.J. RUSSEL: Dissection of a graded visual response with tetrodotoxin. *Wenner-Gren Center Int.Symp.Ser.* 7, 231-250 (1966).
- BERNHARD, C.G., G. HÖGLUND, and D. OTTOSON: On the relation between pigment position and light sensitivity of the compound eye in different nocturnal insects. *J.Insect. Physiol.* 9, 573-586 (1963).
- BURKHARDT, D. und H. AUTRUM: Die Belichtungspotentiale einzelner Sehzellen von *Calliphora erythrocephala* Meig. *Z.Naturforsch.* 15b, 612-616 (1960).
- CARRICABURU, P. et M. CHERRAK: Électrorétinogramme du scorpion *Androctonus australis* L. en réponse à des éclairs périodiques. *C.R.Acad.Sci.Paris Sér.D* 266, 1299-1301 (1968a).
- , et - : Influence de la luminance de la source sur l'électrorétinogramme du scorpion *Androctonus australis* L. *Bull.Soc.Hist.Nat.Afr.Nord* 59, 19-23 (1968b).
- , et R.A. NAIT: Électrorétinogramme du scorpion *Androctonus australis* L. *C.R.Acad.Sci.Paris Sér.D* 264, 2819-2821 (1967).
- CLOUDSLEY-THOMPSON, I.L.: Studies in diurnal rhythms. *VI. Ann.Mag.Natur.Hist.* (12), 2, 305-329 (1956).
- FLEISSNER, G.: Untersuchungen zur Sehphysiologie der Skorpione. *Verh.Dt.Zool.Ges.Innsbruck* (1968).
- FOUCHARD, R., et P. CARRICABURU: Quelques aspects de la physiologie visuelle chez le scorpion *Buthus occitanus*: étude électro-rétinographique. *Bull.Soc.Hist.Nat.Afr. Nord* 61, 57-67 (1970).

- GRUND, Rodolph: Pigmentwanderung und Retinomotorik in Komplexaugen von Insekten. Zulassungsarbeit für das höhere Lehramt, Univ. München (1964).
- HARTLINE, H.K., H.G. WAGNER, and E.F. MAC NICHOL: The peripheral origin of nervous activity in the visual system. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. 17, 125 (1952).
- HÖGLUND, G.: Pigment migration, light screening, and receptor sensitivity in the compound eye of nocturnal lepidoptera. Actaphysiol. scand. Vol. 69, Suppl. 282, 5-56 (1966).
- JAHN, P.L., and F. CRESCITELLI: Diurnal changes in the electrical responses of the compound eye. Biol. Bull. 78, 42-52 (1940).
- JAHN, T.L., and V.I. WULFF: Allocation of electrical response from the compound eye of grasshoppers. J. gen. Physiol. 26, 75-88 (1942).
- LANGER, H.: Über die Pigmentgranula im Facettenauge von Calliphora erythrocephala Meig. Z. vgl. Physiol. 55, 354-377 (1967).
- LINSENMAIR, K.E.: Anemomenotaktische Orientierung bei Skorpionen (Chelicerata, Scorpiones). Z. vgl. Physiol. 60, 445-449 (1968).
- MACHAN, L.: Studies on structure, electroretinogram, and spectral sensitivity of the lateral and median eyes of the scorpion. Doctoral dissertation, University of Wisconsin, Madison, Wis., USA (1966).
- : Studies on the structure, and electrophysiology of scorpion eyes. The time course of dark adaptation determined by constant stimulus and constant response methods. S.A. Jr. Sci. 63, (12), 512-520 (1967).
 - : The effect of prolonged dark adaptation on sensitivity and correlation of shielding pigment position in the median and lateral eyes of the scorpion. Comp. Biochem. Physiol. 26, 365-368 (1968)a.
 - : Spectral sensitivity of scorpion eyes and the possible role of shielding pigment effect. J. exp. Biol. 49, 95-105 (1968) b.
- NAKA, K.I.: Recording of retinal action potentials from single cells in the insect compound eye. J. gen. Physiol. 44, 571-584 (1961).

- NAKA, K.I., and K. KISHIDA: Retinal action potentials during dark and light adaptation. Wenner-Gren Center Int.Symp.Ser. 7, 251-266 (1966).
- PARKER, S.H.: Eyes in Scorpionidae. Bull.Mus.Comp.Zool. Cambridge 13, 173-208 (1887).
- RAO, K.P.: Blood borne factors in circadian rhythms of activity. Nature (Lond.), 213, 1047-1048 (1967).
- RATHMAYER, W.: Methylmethacrylat als Einbettungsmedium für Insekten. Experientia (Basel), 18, 47-48 (1962).
- : Neuromuscular transmission in a spider and the effect of calcium. Comp.Biochem.Physiol. 14, 673-687 (1965).
- Mc REYNOLDS, J., and A.L.F. GORMAN: Photoreceptor potentials of opposite polarity in the eye of the scallop, *Pecten irradians*. J.gen.Physiol. 56, 376-391 (1970).
- ROMEIS, B.: Mikroskopische Technik. R.Oldenburger, München (1948).
- RUSHTON, W.A.H.: Visual adaptation, Proc.Roy.Soc. B 162, 20-46 (1965).
- SCHEURING, L.: Die Augen der Arachnoideen: I. Die Augen der Skorpioniden. Zool.Jb.Anat.Ont. 33, 553-588 (1913).
- STUDNITZ, G.von: Physiologie des Sehens. Retinale Primärprozesse. In : Probleme der Biologie. 3, Akad.Verlagsges., Geest und Portig, Leipzig (1952).
- THERMAN, P.O.: Electrical response of eyes. Amer.J.Physiol. 130, 239-248 (1940).
- VACHON, M.: The biology of scorpions. Endeavour 12, 80-89 (1953).
- WADA, S. und G. SCHNEIDER: Circadianer Rhythmus der Pupillenweite im Ommatidium von *Tenebrio molitor*. Z.vgl.Physiol. 58, 395-397 (1968).
- WASHIZU, Y.: Electrical activity of single retinula cells in the compound eye of the blowfly *Calliphora erythrocephala* Meig. Comp.Biochem.Physiol. 12, 369-387 (1964).
- WELSH, I.H.: Diurnal rhythm of the distal pigment cells in the eyes of certain crustaceans. Proc. nat.Acad. Sci.USA 16, 386-395 (1930).
- WUTTKE, W.: Untersuchungen zur Aktivitätsperiodik bei *Euscorpius carpathicus*. Z.vgl.Physiol. 53, 405-414 (1966).

YEANDLE, S.: Ph.D. dissertation. The Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, USA (1957).

YINON, U.: The electroretinogram of scorpion eyes. Comp. Biochem. Physiol. 30, 989-992 (1969).

LEBENS LAUF

Am 4. März 1940 wurde ich, Günther Fleißner, als zweiter Sohn des Maschinenbauingenieurs Ernst Fleißner und seiner Ehefrau Friedl Fleißner, geb. Lang, in Asch/Sudetenland geboren.

1946 wurden wir aus Asch vertrieben und in Steinfurth bei Bad Nauheim angesiedelt. Dort besuchte ich 4 Jahre lang die Grundschule und anschließend 9 Jahre lang das Ernst Ludwig Gymnasium in Bad Nauheim, an dem ich 1960 das Abitur absolvierte.

Im selben Jahr begann ich mein Studium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt/M. mit dem Hauptfach Biologie und den Nebenfächern Chemie und Physik. 1963 studierte ich ein Semester in Tübingen.

Ich strebte zunächst das Lehramt an höheren Schulen an. Vor Abschluß meines Studiums stellte ich gemeinsam mit meinem Bruder Helmut (in den Jahren 1964 bis 1966) einen Unterrichtsfilm über die Lebensgemeinschaft der Korallenriffe des Roten Meeres her. Danach beschloß ich in Zoologie zu promovieren und nahm 1966 bei Prof. Dr. D. Burkhardt in Ffm. eine Dissertationsarbeit an. Nachdem sich das erste Thema für diese Arbeit als im Rahmen einer Dissertation undurchführbar erwiesen hatte, begann ich Ende 1967 mit den Untersuchungen über die Sehphysiologie der Skorpione.

Meine akademischen Lehrer waren:

Buddecke, Burkhardt, Cramer, Czerny, Dänzer, Egle, Fiedler, Gebhardt, Gierer, Giersberg, Halbsguth, Hanke, Hartmann, Hoffmann-Berling, Hohorst, Huber, Jander, Kaplan, Kohlenbach, Kramp, Kuhl, Kulzer, Lindauer, Lotz, Maegdefrau, Merkel, Metzner, Möhres, Monsheimer, Peters, Pfeleiderer, Rang, Ried, Rietschel, Rosenstock, Royen, Rosenmund, Ruttner, Sauer, Schaaf, Schäfer, Scheuerl, Schmid, Starck, Wacker, Weitzel, Wieland.

